

(19) 日本国特許庁 (J P)

(12) 公表特許公報 (A)

(11) 特許出願公表番号

特表平7-504680

第3部門第2区分

(43) 公表日 平成7年(1995)5月25日

(51) Int.Cl. ⁶	識別記号	庁内整理番号	F I
A 6 1 K 38/00	A B J		
A 6 1 C 8/00		Z 7108-4C	
A 6 1 L 27/00		F 7019-4C	
		8314-4C	
			A 6 1 K 37/ 02 A B J

審査請求 有 予備審査請求 有 (全 29 頁)

(21) 出願番号 特願平6-501663
 (86) (22) 出願日 平成5年(1993)6月8日
 (85) 翻訳文提出日 平成6年(1994)12月16日
 (86) 国際出願番号 PCT/US93/05446
 (87) 国際公開番号 WO93/25246
 (87) 国際公開日 平成5年(1993)12月23日
 (31) 優先権主張番号 901, 703
 (32) 優先日 1992年6月16日
 (33) 優先権主張国 米国 (US)
 (81) 指定国 EP(AT, BE, CH, DE, DK, ES, FR, GB, GR, IE, IT, LU, M C, NL, PT, SE), AU, CA, JP

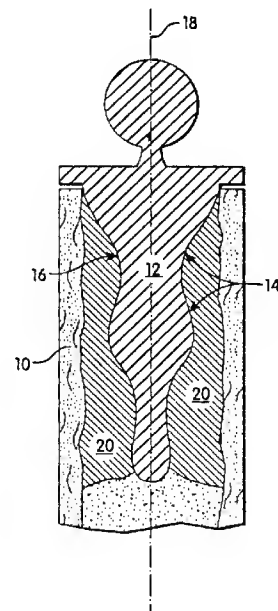
(71) 出願人 ストライカー コーポレイション
 アメリカ合衆国 マサチューセッツ
 01760-0053, ネイティック, ウースター
 ロード 594, スイート 201, ワン ア
 ップル ヒル
 (72) 発明者 ルーガー, デイビッド シー,
 アメリカ合衆国 マサチューセッツ
 01748, ホブキントン, ダウニー ストリ
 ート 19
 (74) 代理人 弁理士 山本 秀策

最終頁に続く

(54) 【発明の名称】 増強された骨形成特性を有する補綴デバイス

(57) 【要約】

実質的に純粋な骨形成タンパク質でコーティングされた補綴物を含有する補綴デバイスが開示される。インビボにおいて補綴デバイスを生物学的に固定する方法もまた開示される。この方法では、補綴物は、実質的に純粋な骨形成タンパク質に接触させて個体に移植され、接合部位でのこの補綴物と本来の骨との間の接着強度を増強する。



請求の範囲

1. 移植可能な補綴デバイスのインビボでの骨統合を促進する方法であって、以下の工程を包含する、方法：

該補綴デバイスの表面上に実質的に純粋な骨形成タンパク質を提供する工程；および

該デバイスを哺乳類に特定の部位で移植する工程であって、ここで、該部位で、骨組織と該表面とが、該組織と該デバイスとの間で骨組織の成長を増強させるのに十分な時間、少なくとも部分的に接触されて維持される、工程。

2. 哺乳類の骨格系を修復する方法であって、骨組織に接触させて補綴デバイスを外科的に移植する工程、および該デバイスおよび該骨組織を、重量を支える骨成分を形成するように組み込む工程を包含し、以下の改良点を包含する、方法：

実質的に純粋な骨形成タンパク質を該補綴デバイスの表面上に、その移植の前に提供する工程であって、それにより該デバイスへの骨組織の成長の増強を促進し、そして該骨と該デバイスとの間の接合部の引っ張り強度を改良する、工程。

3. 前記補綴デバイスの表面が、ヒドロキシアパタイト、コラーゲン、グリコール酸、乳酸、または酪酸のホモポリマーまたはコポリマーおよびそれらの誘導体、リン酸三カルシウムまたは他のリン酸カルシウム、酸化金属、またはそれら

ブユニットの1つが、ストリンジェントなハイブリダイゼーション条件下でOPS（配列番号1の335残基から431残基）をコードする核酸にハイブリダイズし得る核酸によりコードされたアミノ酸配列を有し、該サブユニットを含むジスルフィド結合ダイマー種が、前記デバイスの表面に配置されるとき哺乳類で軟骨内骨形成を誘導し得るコンホメーションを有する。

8. 前記骨形成タンパク質が、該タンパク質の各鎖が、配列番号1の335～431残基（OPS）を含むアミノ酸配列と60%より大きい同一性を有するアミノ酸配列を含むことで特徴づけられる、骨形成に活性なダイマータンパク質である、請求項1または2に記載の方法。

9. 前記骨形成タンパク質が、該タンパク質の各鎖のアミノ酸配列が、OPSを含むアミノ酸配列と65%より大きい同一性を有するアミノ酸配列を含むことで特徴づけられる、骨形成に活性なダイマータンパク質である、請求項8に記載の方法。

10. 前記骨形成タンパク質が、該タンパク質の各鎖のアミノ酸配列が、配列番号1の335-431残基（OPS）を含むことで特徴づけられる、骨形成に活性なダイマータンパク質である、請求項9に記載の方法。

11. 前記骨形成タンパク質が、ホモダイマーである骨形

の組み合わせをさらに含む、請求項1または2に記載の方法。

4. 前記補綴デバイスが、有孔性の金属材料を含む、請求項1または2に記載の方法。

5. 前記骨形成タンパク質が骨形成活性ダイマータンパク質である、請求項1または2に記載の方法。

6. 前記骨形成タンパク質が、宿主細胞における組換えDNAの発現により生産される骨形成活性ダイマータンパク質であり、そして1対のポリペプチド鎖を含み、各ポリペプチド鎖は、該ポリペプチド鎖対が、ダイマー種を生成するようにジスルフィド結合されるとき、哺乳類に移植されるときに該表面に関連して軟骨内骨形成を誘導し得るコンホメーションを有するような、配列番号1の335残基から431残基までの配列（OPS）に十分に重複しているアミノ酸配列を有する、請求項1または2に記載の方法。

7. 前記骨形成タンパク質が、宿主細胞における組換えDNAの発現により生産される骨形成活性ダイマータンパク質である、請求項1または2に記載の方法であって、以下により特徴づけられる、方法：

ここで、該タンパク質が、ダイマー種を生成するようにジスルフィド結合された1対の酸化サブユニットを含み、該サ

成に活性なダイマータンパク質であり、ここで、両鎖はOPS（配列番号1の335-431残基）のアミノ酸配列を含む、請求項9に記載の方法。

12. 前記骨形成に活性なダイマータンパク質の両鎖が、配列番号1の293-431残基（OP1-18Ser）のアミノ酸配列を含む、請求項11に記載の方法。

13. 骨組織に近接した移植のために有孔または無孔の表面領域を有する堅い補綴インプラントを含む、哺乳類の骨の欠損、損傷、または異常を修復するための改良補綴デバイスであって、以下を含むデバイス：

該表面への骨組織の成長の増強を促進するのに十分な量で、該表面領域に配置された実質的に純粋な骨形成に活性な骨形成タンパク質。

14. 前記補綴デバイスの表面が、さらにヒドロキシアパタイトを含む、請求項13に記載のデバイス。

15. 前記骨形成タンパク質が骨形成に活性なダイマータンパク質である、請求項13に記載のデバイス。

16. 前記骨形成タンパク質が、宿主細胞における組換えDNAの発現により生産される骨形成活性ダイマータンパク質で

あり、そして1対のポリペプチド鎖を含み、各ポリペプチド鎖は、該ポリペプチド鎖対が、ダイマー種を生成するようにジスルフィド結合されると、哺乳類に移植されるときに前記表面に関連して軟骨内骨形成を誘導し得るコンホメーションを有するような、配列番号1の335残基から431残基までの配列(OPS)に十分に重複しているアミノ酸配列を有する、請求項13に記載のデバイス。

17. 前記骨形成タンパク質は、骨形成に活性なダイマータンパク質であり、ここで、該タンパク質が、ダイマー種を生成するようにジスルフィド結合された1対の酸化サブユニットを含み、該サブユニットの1つが、ストリンジェントなハイブリダイゼーション条件下でOPS(配列番号1の335残基から431残基)をコードする核酸にハイブリダイズし得る核酸によりコードされたアミノ酸配列を有し、該サブユニットを含むジスルフィド結合ダイマー種が、前記デバイスの表面に配置されるとき哺乳類で軟骨内骨形成を誘導し得るコンホメーションを有することにより特徴づけられる、請求項13に記載のデバイス。

18. 前記骨形成タンパク質が、該タンパク質の各鎖が、配列番号1の335-431残基(OPS)を含むアミノ酸配列と60%より大きい同一性を有するアミノ酸配列を含むことで特徴づけられる、骨形成に活性なダイマータンパク質である、請求

24. 前記補綴物が、その縦軸に垂直方向で複数のくぼみを有する、開口部への挿入のための移植可能な不規則輪郭部分を備えている、請求項13に記載のデバイス。

25. 歯科用インプラントを含む、請求項24に記載のデバイス。

26. 補綴デバイスの、骨の開口部へのインビボでの骨統合を促進するための方法であって、以下の工程を包含する、方法：

移植可能な不規則輪郭部分を有するデバイスを該開口部への挿入のために提供する工程であって、該輪郭部分はその縦軸に垂直方向で複数のくぼみを有する、工程；および

該開口部へ、該補綴デバイスの該輪郭部分、およびマトリックスと組み合わせた実質的に純粋な骨形成タンパク質骨成長組成物を移植する工程であって、該組成物は、該くぼみでの骨成長、該骨と該補綴デバイスとの間の骨統合、および該組成物および該骨により誘導される新規な骨の骨統合を誘導する、工程。

27. 前記不規則輪郭部分が、有孔性金属材料を含む、請求項26に記載の方法。

項13に記載のデバイス。

19. 前記骨形成タンパク質が、該タンパク質の各鎖のアミノ酸配列が、OPS(配列番号1の335-431残基)を含むアミノ酸配列と65%より大きい同一性を有するアミノ酸配列を含むことで特徴づけられる、骨形成に活性なダイマータンパク質である、請求項18に記載のデバイス。

20. 前記骨形成タンパク質が、該タンパク質の各鎖のアミノ酸配列が、配列番号1の335-431残基(OPS)を含むことで特徴づけられる、骨形成に活性なダイマータンパク質である、請求項19に記載のデバイス。

21. 前記骨形成タンパク質が、ホモダイマーである骨形成に活性なダイマータンパク質であり、ここで、両鎖はOPS(配列番号1の335-431残基)のアミノ酸配列を含む、請求項19に記載のデバイス。

22. 前記骨形成に活性なダイマータンパク質の両鎖が、配列番号1の293-431残基(OP1-18Ser)のアミノ酸配列を含む、請求項21に記載のデバイス。

23. 前記補綴物が、有孔性の金属材料を含む、請求項13に記載のデバイス。

28. 前記骨形成タンパク質が、前記孔への骨の内方成長を増強する、請求項27に記載の方法。

29. 骨の開口部への補綴物のインビボでの骨統合を促進するためのデバイスであって、以下を含むデバイス：

該開口部への挿入のための不規則輪郭部分を有する堅い補綴インプラントであって、該輪郭部分は、その縦軸に垂直方向に複数のくぼみを有する、インプラント；および

マトリックス材と組み合わせて実質的に純粋な骨形成タンパク質を含む骨成長組成物であって、該組成物は、該くぼみでの骨の成長、該骨と該補綴デバイスとの間の骨統合、および該組成物および該骨により誘導される新規な骨の骨統合を誘導する、組成物；

30. 前記不規則輪郭部分が、有孔性の金属材料を含む、請求項29に記載のデバイス。

31. 前記骨形成タンパク質が、前記孔への骨の内方成長を増強する、請求項30に記載のデバイス。

32. 前記マトリックス材が、ヒドロキシアパタイト、コラーゲン、グリコール酸、乳酸、または酪酸のポリマーまたはコポリマー、リン酸三カルシウムまたは他のリン酸カルシウム、酸化金属、脱塩されグアニジン抽出された骨、および

それらの組み合わせからなる群から選択される、請求項 29 に記載のデバイス。

33. 歯科用インプラントを含む、請求項 29 に記載のデバイス。

34. 前記骨形成タンパク質が、宿主細胞における組換え DNA の発現により生産される骨形成活性ダイマータンパク質であり、そして 1 対のポリペプチド鎖を含み、各ポリペプチド鎖は、該ポリペプチド鎖対が、ダイマー種を生成するようにジスルフィド結合されるとき、哺乳類に移植されるときに前記補綴物の前記不規則輪郭部分に関連して軟骨内骨形成を誘導し得るコンホメーションを有するような、配列番号 1 の 335 残基から 431 残基までの配列 (OPS) に十分に重複しているアミノ酸配列を有する、請求項 29 に記載のデバイス。

された第 07/569,920 号 (現在は放棄)、これは第 07/422,699 号および第 07/483,913 号 (後者は 1989 年 10 月 17 日に出願された第 07/422,613 号 (現在は米国特許第 4,975,526 号) の一部継続出願および第 07/315,342 号の一部継続出願である) の一部継続出願であった; 7) 1990 年 10 月 18 日に出願された第 07/600,024 号、これは第 07/569,920 号の一部継続出願である; B) 1990 年 10 月 18 日に出願された第 07/599,543 号、これは第 07/569,920 号の一部継続出願である; 9) 1990 年 11 月 21 日に出願された第 07/616,374 号、これは第 07/422,613 号の分割出願である; および 10) 1990 年 2 月 22 日に出願された第 07/483,913 号。

発明の背景

骨格組織の再形成は、骨マトリックス中に天然に存在する特異的タンパク質因子により調節されると考えられている。骨が損傷を受けると、これらの因子が細胞を刺激して、損失したまたは損傷を受けた骨の代わりとなるか、またはそのような骨を修復する、新たな軟骨組織および骨組織を形成する。骨の再形成は、補綴インプラントが、股関節部置換におけるように、病んでいる骨の代わりとなるために結合セメントを用いずに用いられる場合、特に重要である。これらの場合、補綴物と本来の骨との間での堅い骨が形成されることが非常に重要であり、成功するかどうかは接触面でのインプラントと骨組織との間の相互作用に依存する。

関連出願の参照

本出願は、1992 年 2 月 21 日に出願された係属中の米国特許出願第 07/841,646 号の一部継続出願である。この一部継続出願は、以下の米国特許出願の一部継続出願である: 1) 1992 年 1 月 28 日に出願された第 07/827,052 号、これは 1988 年 4 月 8 日に出願された米国特許出願第 07/179,406 号 (現在は米国特許第 4,968,590 号) の分割出願である; 2) 1990 年 9 月 7 日に出願された第 07/579,865 号、これは米国特許出願第 07/179,406 号の分割出願である; 3) 1990 年 12 月 4 日に出願された第 07/621,849 号、1988 年 8 月 15 日に出願された米国特許出願第 07/232,630 号 (現在は放棄) の分割出願であり、後者の出願は第 07/179,406 号の一部継続出願であった; 4) 1990 年 12 月 4 日に出願された第 07/621,988 号、これは 1989 年 2 月 23 日に出願された米国特許出願第 07/315,342 号 (現在は米国特許第 5,011,691 号) の分割出願であり、第 07/232,630 号の一部継続出願である; 5) 1991 年 12 月 20 日に出願された第 07/810,560 号、これは 1991 年 2 月 22 日に出願された米国特許出願第 07/650,162 号 (現在は放棄) の継続出願であり、この第 07/650,162 号は 1989 年 10 月 17 日に出願された第 07/422,699 号 (現在は放棄) の一部継続出願であった (第 07/422,699 号は第 07/315,342 号の一部継続出願であった); 6) 1990 年 8 月 20 日に出願

骨治癒は、1 つまたはそれ以上の骨形成タンパク質により刺激され得る。この骨形成タンパク質は、軟骨内骨形成を生じる細胞事象の発達カスケードを誘導し得る。骨形成を刺激するタンパク質は、文献では、骨形態形成タンパク質、骨誘導タンパク質、骨形成タンパク質、オステオゲニン (osteogenin)、または骨誘導タンパク質 (osteoinductive proteins) と称されている。

米国特許第 4,968,590 号 (1990 年 11 月 6 日) は、マトリックスと関連して哺乳類に移植されたとき哺乳類での軟骨内骨形成を誘導し得、そして移植マトリックス 25mg あたり少なくとも約 25~50ng の半最大活性を有する、骨由来の「実質的に純粋な」骨形成タンパク質の精製を開示している。続いて、このタンパク質の高活性 (例えば、移植マトリックス 1mg あたり骨形成タンパク質 0.8~1.0ng) が示され、これは米国特許第 5,011,691 号に開示されている。この特許はまた、骨形成タンパク質をコードする遺伝子を同定するのに有用なコンセンサス DNA 配列プローブ、およびコンセンサスプローブを用いて同定された骨形成タンパク質をコードする多数のヒト遺伝子を開示しており、本明細書中で「OP1」(骨形成タンパク質-1) と称せられる、それ以前には同定されていなかった遺伝子を含む。このコンセンサスプローブはまた、国際出願第 PCT/US87/01537 号において、8MP-2 クラス I およびクラス II (それぞれ「BMP2」および「8MP4」) および BMP3 と称される配列に対応する DNA 配列を同定した。これらの配列をコードする骨形

成タンパク質は、それぞれ本明細書中で「CBMP2A」、「CBMP2B」、および「CBMP3」と称される。米国特許第5,011,691号はまた、骨形成活性に必要とされる共通の「活性領域」を規定し、マトリックスと関連して哺乳類における軟骨または骨の形成を誘導し得る、いくつかの新規な生合成構築物を記載した。

これらおよび他の研究者らは、軟骨内骨形成のための骨形成因子の移植の成功には、上記タンパク質と、適用する位置においてそのタンパク質を維持する適切なキャリア材またはマトリックスとが密接に関連していることが必要とされることを述べている。粉碎した骨の脱塩、グアニジン抽出、および脱脂後に残った骨コラーゲン粒子が、この目的のために用いられている。多くの骨誘導タンパク質は異種間において有用である。しかし、脱塩し、脱脂し、グアニジン抽出した異種の個体のコラーゲンマトリックスは、典型的にはインビボでの骨誘導を阻害した。SampathおよびReddi (1983) Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 80:6591-6594。しかし、最近Sampathらは、脱塩しグアニジン抽出した骨粉末を処理して異種のインプラントに有用なマトリックスをつくる方法を記載した。例えば、米国特許第4,975,526号(1990年12月4日)を参照のこと。他の有用なマトリックス材としては、例えば、コラーゲン；グリコール酸、乳酸、および酪酸のホモポリマーまたはコポリマー、それらの誘導体を含む；およびセラミック(例えばヒドロキシアパタイト、リン酸三カルシウムおよび

他のリン酸カルシウム)が挙げられる。これらのマトリックス材の組み合わせもまた有用であり得る。

整形用インプラントは、従来では骨セメントを用いて天然骨に付着されていた。より最近では、無セメント補綴物が用いられており、ここで、天然骨と接触する補綴物の一部が有孔性の材料でコーティングされている。W. Spector, J. Art. Horoplasty, 2(2):163-176 (1987); およびCookら, Clin. Orthoped. and Rel. Res., 232:225-243 (1988)。セメントによらない固定は、骨統合(osseointegration)が達成されるとき補綴物の生物学的固定がより強くなるので好ましい。有孔性コーティングは報告されているように骨の内方成長(ingrowth)を刺激し、これにより補綴物の生物学的固定を増強する。しかし、有孔性コーティング補綴物にはいくつかの問題点がある。例えば、デバイスの最初の機械的安定を確実にする骨との密接な適合を得るために補綴物の慎重な選択が必要であり、そして骨内方成長を促進する最初のインプラント-骨接合を確実にするための手術上の精度が要求される。有孔性コーティングインプラントは、いくつかの場合では骨の内方成長を生じない。例えば、膝部代替において用いられる有孔性コーティング脛骨板の場合である。顕著な骨内方成長をもたらし、そして結合部位で天然骨と強い結合を生じる補綴インプラントは、非常に価値がある。

歯科用インプラントのような包埋インプラントの固定に関して、当該分野の現況は充足されていない。典型的には、歯科

用インプラント固定には、歯槽を埋めるための骨の歯槽隙への内方成長による補綴物移植のために、まず個体の顎骨中で歯槽を調製する必要がある。この準備工程は、それだけで完成するまで数カ月を費やし得る。次いで補綴物を歯槽中の新たな骨に貫通し、新たな骨を、歯槽中に包埋したインプラントの貫通部分の周囲に再成長させる。従って、抜歯と補綴物の充填との間の期間が8カ月にもなり得る。さらに、補綴物の骨への装着は、骨の完全性を損傷し得る。骨統合を改良し、固定の時間および影響を減少させる補綴歯科用インプラントが好都合である。

発明の要旨

本発明は、補綴物の移植部位での骨の成長を増強し、この補綴物と本来の骨との間の結合を形成する方法に関する。本明細書中で用いられるように、補綴物は、生体の欠損部を供給する人工部分の付加を意味すると理解される。本発明の方法は、実質的に純粋な骨形成タンパク質で骨と接触される補綴物の全体または一部をコーティングすること、またはそうでなければ接触させることを包含する。この補綴物は、まず骨形成タンパク質でコーティングされて、次いで、特定の部位で、個体中に移植される。ここで、この部位は骨組織および補綴物の表面が、組織と移植された補綴物との間で骨組織の成長を増強させるのに十分な時間、非常に接近して維持される部位である。あるいは、まず、移植の部位が実質的に純

粋な骨形成タンパク質で処理され得、次いで、補綴物が処理部位で移植され得る。この処理部位は、補綴物の全体および一部がその部位で骨形成タンパク質と接触され、そして補綴物、骨形成タンパク質、および本来の骨が、組織と補綴物との間で骨組織の成長を増強させるのに十分な時間、互いに非常に接近して維持される部位である。移植された補綴物に結合した骨形成タンパク質は、補綴物の周囲の骨形成を刺激し、そして補綴物と本来の骨との間で形成される結合を、このタンパク質の非存在下での補綴物と骨との間での形成よりも強くする。

本発明の方法の好ましい実施態様では、人工股関節部代替デバイスのような補綴デバイス(例えば、チタンから生成された金属性デバイス)は、例えば、骨の内方成長を誘導する骨形成材でまずコーティングされる。このデバイスが繞いて個体に移植されるとき、移植部位の周囲の骨成長が増強され、インプラントと本来の骨との間に強い結合の形成がもたらされる。本発明の方法により、生体における補綴物の生物学的固定が増強される。特に重量を支える補綴物に対して重要である。微小孔表面構造を規定する補綴物は、骨形成が微小孔内で起こるように適切な位置に固着される。金属またはセラミックの補綴物は、それ自身でこのような構造を規定し得るか、またはその補綴物がコーティングされて付着性の孔構造を提供し得る。この目的に有用な材料には、例えば、コラーゲン、グリコール酸、乳酸、および酪酸のホモポリマー、

(それらの誘導体を包含する) ; およびセラミック (例えば、ヒドロキシアパタイト、リン酸三カルシウム、または他のリン酸カルシウム類) が包含される。これらの材料の組み合わせは用いられ得る。次いで、実質的に純粋な骨形成タンパク質を非コーティングまたはコーティング補綴物に結合させる。あるいは、骨形成タンパク質をコーティング材と混合し得、そして混合物を補綴物の表面上に付着し得る。

本発明の他の実施態様では、マトリックス材と組み合わせた骨形成タンパク質は、補綴インプラントを支えるために調製された開口部に充填される。インプラントの表面はまた、上記のように骨形成タンパク質でコーティングされ得る。インプラントは、骨の内方成長を可能にする1つまたはそれ以上のくぼみを規定する形状を有する。このくぼみは、好ましくは、インプラントの縦軸に対して垂直方向である。一般に、インプラントの縦軸は、インプラントを支えるように処理されている骨の縦軸と同方向である。新しい骨がくぼみ中に成長し、それによってくぼみを埋め、上記のようにインプラントの表面と統合し、そして本来の骨と組み込まれる。従って、補綴物は開口部中にさらに堅く固定され得、そしてくぼみ中に骨が成長することにより、および新たな骨がインプラントの表面と骨統合することにより、骨形成タンパク質により刺激される両者により、「ラッチされる(latched)」、すなわち適当な位置に保持され得る。

特定の実施態様では、歯科用インプラントは、損失した歯

の代わりに用いられる。インプラントは、典型的には、顎骨中に固定される貫通部分および患者の歯の残部と組み込むように配置された歯部分を含む。インプラントは、骨形成タンパク質で(マトリックスまたはキャリアと共に、またはこれらを有さないで)コーティングされ、そしてそれを支持するように調製された顎骨の歯槽中に貫通されているか、またはネジ止めされている(例えば、骨を、歯槽隙中に成長させて、この歯槽隙を埋めるようにしておく)。特に好ましい実施態様では、歯槽は、隙に骨成長組成物を満たすことにより、インプラントを支えるように調製される。この骨成長組成物は、適切なキャリア材に分散させた骨形成タンパク質から構成される。骨形成タンパク質とキャリアとの組み合わせを、本明細書中では「骨形成デバイス」と称する。骨形成タンパク質は、最初に骨成長が歯槽を満たすことを必要とせず、そして補綴物が本来の骨を貫通する(これにより、本来の骨の完全性を弱め得る)必要がなく、インプラントの顎骨への骨統合を促進する。従って、抜歯と補綴物の充填との間の期間がかなり短くなる。補綴物の充填は1カ月ほどの短い期間で完成され得ることが理解される。さらに、骨形成タンパク質が補綴物の骨統合を促進し得るため、優れた固定材(anchor)が提供される。

上記の骨形成タンパク質でコーティングされた骨形成デバイスもまた本発明の主体である。このデバイスの全体または一部がタンパク質でコーティングされ得る。一般に、本来の

骨と接触される、デバイスの部分のみがコーティングされる。

本発明の方法およびデバイスにより、補綴物の生物学的固定が増強される。強い結合が本来の骨と補綴物との間で形成され、接合部位での機械的強度が改良される。付着強度が高いことは、骨形成が、より強固で耐久的であり、従って、患者に対しより快適で永続的であることを意味する。

図面の簡単な説明

図は、大腿骨に移植された補綴物の一部の断面図を示し、本発明の実施態様に従う骨の内方成長のラッチング作用を示す。

発明の詳細な説明

本発明は、個体において補綴物の移植部位で補綴デバイスと天然骨との間の骨統合を増強する方法に関する。本発明の方法は、実質的に純粋な骨形成タンパク質と共に移植部位に補綴物を提供する工程を包含し、ここでこの骨形成タンパク質は移植された補綴物の全体または一部と接触している。このタンパク質は、補綴物および骨の骨統合を促進し、改良された引っ張り強度を有する強い結合となる。

本発明に有用である骨形成タンパク質は、実質的に純粋な骨形成に活性なダイマータンパク質である。本明細書中で用いられるように、「実質的に純粋な」とは、軟骨内骨形成活性を有さない他の混入タンパク質を実質的に含まないことを

意味する。このタンパク質は、哺乳類の骨に由来する天然由来タンパク質であり得るか、または組換え生産タンパク質であり得る(生合成構築物を含む)。天然由来タンパク質は、ラット脱塩骨粉末に比較して、骨粉末から抽出した脱塩タンパク質の25mgあたり少なくとも25~50ngの半最大活性を有することにより特徴づけられる。

成熟型の未変性天然由来骨形成タンパク質は、SDS-PAGEにより決定された約30kDaの見かけ分子量を有するグリコシル化ダイマーである。還元したとき、この30kDaタンパク質は、約16kDaおよび18kDaの見かけ分子量を有する2つのグリコシル化ペプチドサブユニットを生じる。還元状態では、このタンパク質は検出可能な骨形成活性を有さない。非グリコシル化タンパク質(このタンパク質もまた骨形成活性を有する)は、約27kDaの見かけ分子量を有する。還元したとき、この27kDaタンパク質は、約14kDaおよび16kDaの分子量を有する2つの非グリコシル化ポリペプチドを生じる。組換え生産骨形成タンパク質は、1対のポリペプチド鎖を含む、哺乳類での軟骨内骨形成を誘導し得るダイマータンパク質の類を示し、各ポリペプチド鎖は、生合成構築物、すなわちCOP-5またはCOP-7(配列番号3および4)の配列に十分に重複したアミノ酸配列を有し、その結果、このポリペプチド鎖対は、ダイマー種を生成するようにジスルフィド結合されたとき、哺乳類において軟骨内骨形成を誘導し得る。本明細書中で定義されるように、「十分に重複した」とは、マトリックスに関連して哺

乳類に移植したダイマータンパク質として軟骨内骨活性を有するタンパク質の類を示すことは理解される。各サブユニットは、C末端のシステインに富む領域中で、OPSの配列(335残基から431残基まで、配列番号1)と少なくとも60%のアミノ酸配列相同性を有する。「相同性」とは、アミノ酸配列が同一であること、またはその配列との同類アミノ酸置換が生じていること(Dayoffら、Atlas of Protein Sequence and Structure; 第5巻、第3号、345~362頁、(W.D. Dayoff編、Nat'l Biomed. Research Fdn., Washington, D.C., 1979)により定義される)と、本明細書中で定義される。有用な配列は、以下のタンパク質のC末端を含む配列である: DPP(ショウジョウバエ由来)、Vgl(アフリカツメガエル由来)、Vgr-1(マウス由来)、OP1およびOP2タンパク質、CBMP2、CBMP3、およびCBMP4タンパク質(米国特許第5,011,691号、およびOp permannらにより1992年2月21日に出願された米国特許出願第07/841,646号を参照のこと、これら両方の開示内容は本明細書中に参考として援用されている)、ならびにBMP5およびBMP6と称されるタンパク質(W090/11366、PCT/US90/01630)。これらのタンパク質の多くはまたW088/00205、米国特許第5,013,649号、およびW091/18098に記載されている。表Iに、これら骨形成タンパク質ファミリーの好ましいメンバーを挙げる。

表I—骨形成タンパク質配列

ンである;タンパク質は、グリコシル化パターンに依存してSDS-PAGE上で16kDaまたは15kDaに移動する。関連出願では「OP-16S」とも称されている。

OP1-16Leu — N末端側が切断された成熟ヒトOP1タンパク質種(配列番号1の313-431残基)。N末端アミノ酸はロイシンである;タンパク質は、グリコシル化パターンに依存してSDS-PAGE上で16kDaまたは15kDaに移動する。関連出願では「OP-16L」とも称されている。

OP1-16Met — N末端側が切断された成熟ヒトOP1タンパク質種(配列番号1の315-431残基)。N末端アミノ酸はメチオニンである;タンパク質は、グリコシル化パターンに依存してSDS-PAGE上で16kDaまたは15kDaに移動する。関連出願では「OP-16M」とも称されている。

OP1-16Ala — N末端側が切断された成熟ヒトOP1タンパク質種(配列番号1の316-431残基)。N末端アミノ酸はアラニンである;タンパク質は、グリコシル化パターンに依存してSDS-PAGE上で16kDaまたは15kDaに移動する。関連出願では「OP-16A」とも称されている。

OP1-16Val — N末端側が切断された成熟ヒトOP1タンパク質種(配列番号1の318-431残基)。N末端アミノ酸はバリンである;タンパク質は、グリコシル化パターンに依存してSDS-PAGE上で16kDaまたは15kDaに移動する。関連出願では「OP-16V」とも称されている。

mOP1 — マウスOP1タンパク質をコードするDNA(配列番

hOP1 — ヒトOP1タンパク質をコードするDNA配列(配列番号1または3)。関連出願では「OP1」、「hOP-1」、および「DP-1」とも称されている。

OP1 — 一般的に、hOP1遺伝子の一部または全体の発現により生産された骨形成に活性なタンパク質ファミリーを称する。関連出願では「OP1」および「OP-1」とも称されている。

hOP1-PP — ヒトOP1タンパク質(プレプロ型)のアミノ酸配列(配列番号1の1-431残基)。関連出願では「OP1-PP」および「OPP」とも称されている。

OP1-18Ser — 成熟ヒトOP1タンパク質のアミノ酸配列(配列番号1の293-431残基)。N末端アミノ酸はセリンである。元来COS細胞のSOS-PAGEの18kDaに移動したバンドにより同定された。また、種々の宿主細胞におけるタンパク質グリコシル化パターンに依存して、SDS-PAGEで23kDa、19kDa、および17kDaに移動する。関連出願では「OP1-18」とも称されている。

OPS — 活性領域において保存的な6個のシステイン骨格を規定するヒトOP1タンパク質種(97アミノ酸、配列番号1の335-431残基)「S」は、「ショート(short)」を表す。

OP7 — 活性領域において保存的な7個のシステイン骨格を規定するヒトOP1タンパク質種(102アミノ酸、配列番号1の330-431残基)。

OP1-16Ser — N末端側が切断された成熟ヒトOP1タンパク質種(配列番号1の300-431残基)。N末端アミノ酸はセリ

号8)。関連出願では「mOP-1」とも称されている。

mOP1-PP — マウスタンパク質のプレプロ型(配列番号8の1-431残基)。関連出願では「mOP-1-PP」とも称されている。

mOP1-Ser — 成熟マウスOP1タンパク質種(配列番号8の292-430残基)。N末端アミノ酸はセリンである。関連出願では「mOP1」および「mOP-1」とも称されている。

mOP2 — マウスOP2タンパク質をコードするDNA(配列番号12)。関連出願では「mOP-2」とも称されている。

mOP2-PP — mOP2タンパク質のプレプロ型(配列番号12の1-399残基)。関連出願では「mOP-2-PP」とも称されている。

mOP2-Ala — 成熟マウスOP2タンパク質種(配列番号12の261-399残基)。N末端アミノ酸はアラニンである。関連出願では「mOP2」および「mOP-2」とも称されている。

hOP2 — ヒトOP2タンパク質をコードするDNA(配列番号10)。関連出願では「hOP-2」とも称されている。

hOP2-PP — ヒトOP2タンパク質のプレプロ型(配列番号10の1-402残基)。関連出願では「hOP-2-PP」とも称されている。

hOP2-Ala — 生じ得る成熟ヒトOP2タンパク質種(配列番号10の264-402残基)。関連出願では「hOP-2」とも称されている。

hOP2-Pro — 生じ得る成熟ヒトOP2タンパク質種(配列番号10の267-402残基)。N末端アミノ酸はプロリンである。関連出願では「hOP-2P」とも称されている。

hOP2-Arg — 生じ得る成熟ヒトOP2タンパク質種（配列番号10の270-402残基）。N末端アミノ酸はアルギニンである。関連出願では「hOP-2R」とも称されている。

hOP2-Ser — 生じ得る成熟ヒトOP2タンパク質種（配列番号10の243-402残基）。N末端アミノ酸はセリンである。関連出願では「hOP-2S」とも称されている。

Vgr-1-fx — ネズミ「Vgr-1」タンパク質のC末端の102アミノ酸残基（配列番号7）。

CBMP2A — ヒトBMP2Aタンパク質のC末端の101アミノ酸残基（配列番号14の296-396残基）。

CBMP2B — ヒトBMP2Bタンパク質のC末端の101アミノ酸残基（配列番号1B）。

BMP3 — 成熟ヒトBMP3（部分配列、配列番号16。C末端の102残基に関して米国特許第5,011,691号「CBMP3」を参照のこと。）

BMP5-fx — ヒトBMP5タンパク質のC末端の102アミノ酸残基（配列番号20）。

BMP6-fx — ヒトBMP6タンパク質のC末端の102アミノ酸残基（配列番号21）。

COP5 — 生合成骨形成96アミノ酸配列（配列番号3）。

COP7 — 生合成骨形成96アミノ酸配列（配列番号4）。

DPP-fx — ショウジョウバエ「DPP」タンパク質のC末端の102アミノ酸残基（配列番号5）。

Vgl-fx — アフリカツメガエル「Vgl」タンパク質のC末

端の102アミノ酸残基（配列番号6）。

表記タンパク質ファミリーのメンバーは、この領域に保存的な6個または7個のシステイン骨格を共通して有している（例えば、これらのC末端システイン残基の直線配置は、種々のタンパク質で保存されている）。例えば、OPS（この配列は6システイン骨格を規定する）またはOP7（OP1の長型、102個のアミノ酸を含み、そしてこの配列は7システイン骨格を規定する）を参照のこと。さらに、OP2タンパク質は、この領域内にさらなるシステイン残基を含む。

表記タンパク質ファミリーには、所定のタンパク質の長型、ならびに種および対立遺伝子変異種および生合成的変異体（付加および欠失の変異体および変異種を含む）を包含する。これらは、保存的なC末端システイン骨格を変化し得るが、この変化により、タンパク質が、マトリックスに関連して哺乳類に移植されたときに哺乳類において骨形成を誘導し得るコンホメーションを有するダイマー種を形成し得る場合に限られる。さらに、本発明のデバイスに有用な骨形成タンパク質は、種々のグリコシル化パターンおよび種々のN末端を有する型を含み得、天然に存在し得るかまたは生合成的に誘導され得、そして原核または真核の宿主細胞における組換えDNAの発現により生産され得る。このタンパク質は、単独種として活性であるか（例えばホモダイマー）、または混合種として組み合わせられ得る。

本発明の補綴デバイスに有用な上記タンパク質の特に好ましい実施態様は、システインに富むC末端ドメインのアミノ酸配列が、OPSのアミノ酸配列と60%より大きい同一性を有しており、好ましくは65%より大きい同一性を有する。

別の好ましい局面では、本発明は、本明細書中で「OPX」と称する一般アミノ酸配列を有するポリペプチド鎖からなる種を含む骨形成タンパク質を含む。この配列により、骨形成OP1タンパク質および骨形成OP2タンパク質の種々の同定された種の間で相同性が提供され、そしてこの配列は、配列番号22のアミノ酸配列により示される。

さらに別の好ましい局面では、本発明は、ストリンジェントなハイブリダイゼーション条件下でOP1またはOP2の活性領域をコードするDNA配列またはRNA配列にハイブリダイズする核酸、およびこれらの核酸によりコードされる骨形成に活性なポリペプチド鎖を含む。本明細書中で用いられるように、ストリンジェントなハイブリダイゼーション条件とは、40%ホルムアミド、5×SSPE、5×デンハート溶液、および0.1% SDS中で37℃で一晩ハイブリダイズし、そして0.1×SSPE、0.1% SDS中で50℃で洗浄することと定義される。

本発明は、さらに、ストリンジェントなハイブリダイゼーション条件下でOP1またはOP2の「プロ」領域にハイブリダイズする核酸、およびこれらの核酸によりコードされる骨形成に活性なポリペプチド鎖を含む。本明細書中で用いられるように、「骨形成に活性なポリペプチド鎖」とは、二量体化さ

れたときに、以下のようなコンホメーションを有するタンパク質種を生成するこれらのポリペプチド鎖を意味することが理解される。このコンホメーションは、このポリペプチド鎖対が、マトリックスまたはキャリアに関連して哺乳類に移植されたときに哺乳類において軟骨内骨形成を誘導し得るコンホメーションである。

上記のアミノ酸およびDNAの配列情報、当該分野の技術レベル、および米国特許第5,011,691号および公開PCT出願明細書US 89/01469（1989年10月19日公開）の開示（これらの開示内容は本明細書中に参考として援用されている）を得ることに、本発明のデバイスに有用な、骨形成タンパク質、およびそれらの種々のアナログ（種および対立遺伝子変異種、および遺伝子工学的に設計された変異を含む変異種を含む）、ならびに融合タンパク質、成熟タンパク質の切断型、欠失および付加変異体、および類似の構築物の少なくとも活性ドメインをコードする種々のDNAが構築され得る。さらに、DNAハイブリダイゼーションプローブは、これらのタンパク質のいずれのフラグメントからも構築され得、または上記一般配列からde novoに設計され得る。これらのプローブは次いで異なるゲノムライブラリーおよびcDNAライブラリーをスクリーニングするのに用いられ、本発明の補綴デバイスに有用なさらなる骨形成タンパク質を同定し得る。

このDNAは、周知のDNA操作技法（ゲノムおよびcDNAの単離、合成したオリゴヌクレオチドからの合成DNAの構築、およびカ

セット突然変異誘発法を含む)を用いて、当業者により作製され得る。15~100マールのオリゴヌクレオチドは、DNAシンセサイザーで合成され得、トリス-ホウ酸-EDTA緩衝液中のポリアクリルアミドゲル電気泳動(PAGE)により精製され得る。次いで、このDNAは、ゲルから電気溶出され得る。重複するオリゴマーは、T4ポリヌクレオチドキナーゼによりホスホリル化され得、そしてより大きなブロックに連結され得、これをまたPAGEにより精製し得る。

次いで、適切に同定されたクローン由来のDNAが単離され得、サブクローニングされ得(好ましくは発現ベクター中に)、そして配列決定され得る。次いで、目的の配列を含むプラスミドが、タンパク質発現およびさらなる特徴付けのために適切な宿主細胞にトランスフェクトされ得る。この宿主は、原核細胞または真核細胞であり得る。前者の場合でのタンパク質をグリコシル化しないことは、上記タンパク質の形態形成活性を喪失させない。有用な宿主細胞には、*E. coli*、*Saccharomyces*、昆虫バキュロウイルス細胞系、ミエロマ細胞、CHO細胞、および種々の他の哺乳類細胞が含まれる。ベクターは、組換えタンパク質の正確な発現を促進する種々の配列をさらにコードし得る。この配列は、転写プロモーターおよび終止配列、エンハンサー配列、好ましいリボゾーム結合部位配列、好ましいmRNAリーダー配列、タンパク質分泌のために好ましいシグナル配列などを含む。

目的の遺伝子をコードするDNA配列はまた、阻害可能性のあ

る配列を除去するかまたは望ましくない二次構造の形成を最小化するように操作され得る。組換え骨形成タンパク質はまた、融合タンパク質として発現され得る。翻訳された後、このタンパク質は細胞自身から精製され得るか、または培地から回収され得る。すべての生物学的に活性なタンパク質の型は、ジスルフィド結合により結合されるか、またはそうでなければ、個々のサブユニットの発現後に適切な真核細胞内またはインビトロで1つまたはそれ以上の種々の組換えポリペプチド鎖を折り畳み、酸化することにより金合されて生成されるダイマー種を包含する。*E. coli*における組換えDNAから発現した骨形成タンパク質の詳細な説明は、米国特許出願第422,699号(1989年10月17日に出版)に開示されており、この開示内容は本明細書中に参考として援用されている。多くの種々の哺乳類細胞における組換えDNAから発現した骨形成タンパク質の詳細な説明は、米国特許出願第569,920号(1990年8月20日に出版)に開示されており、この開示内容は本明細書中に参考として援用されている。

あるいは、骨形成ポリペプチド鎖は、当業者に周知の従来のペプチド合成法を用いて化学的に合成され得る。例えば、このタンパク質は、固相ペプチド合成機で、標準的な操作手順を用いて、完全な形でまたは部分的に合成され得る。次いで、完成した鎖を脱保護し、HPLC(高速液体クロマトグラフィー)により精製する。タンパク質が部分的にしか合成されない場合、その部分を標準法を用いてペプチド結合して、完

全なタンパク質を形成し得る。一般的に、骨形成タンパク質が作製される方法は、従来のものであり得、本発明の一部を形成するわけではない。

本発明に有用な骨形成タンパク質は、哺乳類の体内に移植されたとき、軟骨内骨形成の発達カスケード(間葉細胞の補充および増殖、前駆細胞の分化、軟骨形成、軟骨の石灰化、血管侵入、骨形成、改造作用(リモデリング)、および骨髄分化を包含する)を誘導するタンパク質である。本発明の補綴物と接触させる骨形成タンパク質は、本質的に天然の骨治療において生じるように、移植部位で軟骨内骨形成の充分な発達カスケードを誘導し得る。

本発明の方法と共に用いられ得る補綴物は、当該分野で周知の型の有孔または無孔の整形外科補綴物であり得る。このような補綴物は、一般的に金属のような堅い材料から製造され得る。このような金属としては、例えば、ステンレス鋼、チタン、モリブデン、コバルト、クロム、および/またはこれらの金属の合金または酸化物が挙げられる。このような酸化物は、典型的には、薄くて安定した付着性の酸化金属表面コーティングを含む。この補綴物は、骨の浸入が可能のように、好ましくは、有孔性金属から形成されるかまたは有孔性金属でコーティングされているが、無孔性材料もまた用いられ得る。補綴物に用いられる有孔性金属材料は、例えば、Spector, *J. Arthroplasty*, 2(2):163-176 (1987)およびCook, *Clin. Orthoped. and Rel. Res.*, 232:225-243 (1988)に記

載されており、両文献の教示内容は本明細書中に参考として援用されている。金属性補綴物は、主要な骨または関節の代用、および非癒着性の骨折の治療のために用いられ得る(例えば、本来の骨が疾患または損傷により破壊されている場合)。

本発明のデバイスおよび方法の好ましい実施態様では、補綴物は、上記タンパク質に加えて、骨の内方成長および固定を増強する材料でコーティングされる。この目的のために有用な材料は、生体適合性であり、好ましくはインビボにおいて生体分解性であり非免疫原性である。このような材料としては、例えば、コラーゲン、ヒドロキシアパタイト、グリコール酸、乳酸、および酪酸のホモポリマーまたはコポリマーおよびそれらの誘導体、リン酸三カルシウムまたは他のリン酸カルシウム、酸化金属(例えば、酸化チタン)、および脱塩し、グアニジン抽出した骨が挙げられる。

本発明のコーティングされた補綴物は、補綴物の全体または一部に、上記タンパク質溶液、必要に応じてヒドロキシアパタイトまたは他の材料を塗布することにより調製される。タンパク質は、好都合な方法(例えば、ディッピング、刷毛塗り、液浸、スプレー塗布、または凍結乾燥)により塗布され得る。ヒドロキシアパタイトは、好ましくは、プラズマスプレー処理により塗布され得る。上記タンパク質は、好ましくは、補綴物をタンパク質溶液中に、溶液のタンパク質のインプラントへの結合または沈降を誘導するのに適切な条件下で浸漬することにより塗布され得る。インプラントに塗布さ

れるタンパク質の量は、補綴物が受容者に移植されるときに軟骨内骨形成を誘導するのに十分な濃度でなければならない。一般的に、表面積 3.4cm^2 あたり少なくとも $5\mu\text{g}$ のタンパク質の範囲の濃度がこのような目的には十分である。ヒドロキシアパタイトまたは他のキャリア材料が用いられる場合には、これらの材料は約 15μ から約 60μ の厚さを形成するのに必要とされる量で補綴物に塗布される。実施例に示すように、約 25μ 厚さのヒドロキシアパタイト層がインプラント固定の改良に用いられている。

1つの局面では、補綴物は、該補綴物を支えるように調整された開口部に挿入されるように形成されるデバイスを含む。この実施態様では、図に示すように、骨の内部(10)を、インプラント(12)の挿入のための準備としてくり抜く。このインプラントは、複数のくぼみ(16)を規定する不規則輪郭の表面デザイン(14)を有し、このためくぼみへの骨の内方成長が可能になる。このくぼみは、好ましくは、インプラントの縦軸(18)に対して垂直方向にある。開口部に挿入される不規則輪郭部分は、上記のように骨形成タンパク質でコーティングされ得る。マトリックス材(20)と組み合わせられる骨形成タンパク質を、補綴インプラントと共に開口部に充填し、それによりインプラントを取り囲む骨形成タンパク質により刺激されて、上記のように、新たな骨がくぼみ(16)中に成長し、インプラント(12)の表面および既に存在する骨(10)と統合する。従って、上記補綴物は、適切な位置で機械的および生物学的

に固定され、骨に関連するインプラントの軸の動きは、骨組織の剪断を必要とするようになる。骨の成長および固定を増強する補綴物のコーティングのためのマトリックス材(20)は、上記の材料のいずれかであり得る。例えば、コラーゲン、ヒドロキシアパタイト、グリコール酸、乳酸、および酪酸のホモポリマーまたはコポリマーおよびそれらの誘導体、リン酸三カルシウムまたは他のリン酸カルシウム、酸化金属(例えば、酸化チタン)、および脱塩シグアニジン抽出した骨が挙げられる。本発明の実施態様で用いられ得る骨形成タンパク質との使用のためのマトリックス材は、例えば、米国特許第5,011,691号、および同時係属米国特許出願第07/841,646号(Oppermannらによる、1992年2月21日に出願)に記載の材料であり、これらの教示内容は、これにより本明細書中に参考として援用される。

図に示される補綴物は、最後に補綴物の一部が骨組織にはめ込まれるべき場所への、歯科用インプラントおよび他のインプラントに特に有用である。開口部(例えば歯槽)の「骨形成デバイス」(例えばマトリックス材と組み合わせた骨形成タンパク質)での充填は、このデバイスが本来の骨に貫通される必要がなく、補綴物をはめ込む場所に堅い材料を提供する。さらに、骨形成タンパク質は、歯槽内およびインプラント中および周囲の軟骨内骨形成を刺激し、よって、補綴物が移植される適切な表面を提供するために以前必要とされていた歯槽への最初の低いレベルの骨の内方成長の工程が不要

となる。従って、本発明のデバイスおよび方法を用いると、移植された補綴物の強い固定が、以前必要とされていた時間の何分の1かの時間で達成され得、よって、拔牙と補綴物の充填との間の期間がかなり短くなる。さらに、この処理は、移植療法の用途を拡大し得、そして、手術工程を取り除き、拔牙のために損失する骨の量を減少し、インプラントをより長い期間挿入でき、そして顎吸収により伴われる補綴物の妥協を最小限にすることにより成功の比率を増大し得る。

本発明は、以下の実施例によりさらに説明され、いかなる方法によっても限定されないことが意図される。

実施例

実施例1

金属インプラント固定

長さ 18mm および直径 $5.95\pm 0.05\text{mm}$ の内筒状インプラントを球状のCo-Cr-Mo粒子から製造し、これは孔サイズ $250\sim 300\mu\text{m}$ および孔隙率 $38\sim 40\%$ であった。結晶度の高く、高密度で孔隙率の低いヒドロキシアパタイト(HA)のコーティングをブラズマスプレー処理により、各インプラントの長さの半分にまで施した。コーティングの厚さは $25\mu\text{m}$ であり、有孔性のコーティング形態を変化させなかった。

最初の実験では、3つのインプラントを部分的に精製したウシOP(bOP)調製物で処理した。bOPは、骨皮質(cortical bo

ne)から抽出し、Saspathら、J. Biol. Chem., 265:13198-13205 (1990)に記載の精製プロトコルのSephacryl-300 HRステップにより部分的に精製した天然由来のOPであった。約 $80\mu\text{g}$ のbOPを含む、 4M グアニジン-HCl、 50mM トリス-HCl、 pH 7.0を $200\mu\text{l}$ ずつ、エッペンドルフチューブ中の各インプラントに加えた。 4°C で一晩インキュベートした後、タンパク質を沈殿させ、そしてインプラントを 80% エタノールで洗浄した。インプラントを続いて凍結乾燥した。bOPを含まない2つのインプラントをコントロールとして与えた。

上記インプラントを骨格が十分に発達した雑種の成犬(3~5歳、 $20\sim 25\text{kg}$ 体重)で大腿骨皮質間モデルを用いて評価した。動物が1つの大腿骨に5つのインプラントが与えられるように、標準的な手術法を用いて行った。3週間で犬を屠殺し、大腿骨を取り出した。

各インプラントが単離されるように、採取した大腿骨を長軸に対して垂直方向に切断した。各インプラントを半分に切断し、1つのHAコーティングサンプルおよび1つの非コーティング押し出し(push out)サンプルを得た。接触面付着強度を特別に設計された試験固定装置を用いて測定した。インプラントは、MTS試験機で 1.27mm/分 の変位速度で破断した。試験後、標準的な非脱灰組織学的分析およびマイクロラジオグラフィ分析のために、すべてのサンプルを調製した。切片(各インプラントに対し4切片)を、組織内方成長の型および質について定性試験し、コンピューター画像分析システム

で骨内方成長の%を定量的に評価した。機械的データおよび定量組織学的データを表IIに示す。

表 II
金属インプラント - bOP

3 週間

	HAコーティング	非コーティング
接点剪断強度, MPa		
コントロール	9.70 (n=2)	3.40 (n=2)
9-バ7質 (bOP)	10.75 (n=3)	4.08 (n=3)
骨内方成長(%)		
コントロール	42.56 (n=4)	37.82 (n=4)
9-バ7質 (bOP)	51.66 (n=4)	46.38 (n=4)

機械的データおよび組織学的データの両データは、bOPがインプラントの骨統合を増強したことを示唆した。HAコーティングおよび非コーティングの両インプラントともが、未処理コントロールに比較して剪断強度および骨内方成長の増大を示した。さらに、HAコーティングインプラントは、非コーティングインプラントに比較して有意な増強を示すと思われた。組織学的切片では、金属孔の間に非常に多くの細胞が直接観察された。

最初のインプラント研究で肯定的な結果が得られたので、より詳細な研究が促された。27のインプラントを組換えヒト

OP1タンパク質で処理した。OP1タンパク質は、形質転換CHO細胞により生産された。OP1の組換え生産の詳細は米国特許出願第841,646号に開示されており、上記に参考として援用されている。このタンパク質を精製し、主要種としてOP1-18Ser（配列番号1の293-431残基）と称されるタンパク質、および約30%はOP1の切断型（例えば、OP1-16Ser、OP1-16Leu、OP1-16Met、OP1-16Ala、およびOP1-16Val）を含んだ。このタンパク質の純度は90%より高かった。インプラントを、5μgの組換えタンパク質を含む200μlの50%エタノール/0.01%TFA中に30分間浸漬し、そして処方チューブがロールする間、この溶液をエタノール/ドライアイス浴中で凍らせた。チューブを続いて凍結乾燥した。また、19のインプラントを、同一の手順により、OP1タンパク質を含ませずにエタノール/TFAで処理することにより調製した。

試験インプラントでは、OP1は8M尿素、1%Tween 80、50mMトリス、pH 8.0で処理したインプラントから抽出され得、HPLCにより分析され得ることがわかった。この方法により、処方チューブ中のすべてのOP1は、用いられた条件下でインプラントに結合したことが示された。さらに、試験インプラントは、HAで半分がコーティングされているので、これらの表面のそれぞれへのOP1の結合を評価するために別のインプラントを得た。最初の結合試験により、OP1は非コーティング金属よりもHAにより容易に結合することが示された。

第二の試験に関し、インプラントは、骨格が十分に発達し

た種雄の成犬で上記大腿骨皮質間モデルを用いて評価した。各動物に対し両側に5つのインプラントを入れるように、標準的な無菌手術法を用いた。移植期間は3週間であった。機械的データおよび定量組織学的データを表IIIに示す。3つのHAコーティングおよび非コーティング形態を評価した：コントロール（未処理）、プレコーティングサンプル（OP1を含まない処方）、および上記のOP1サンプル。

表 III
金属インプラント - OP-1

	接点剪断強度, MPa		骨内方成長(%)	
	3 週間:		3 週間:	
	HAコーティング	非コーティング	HAコーティング	非コーティング
コントロール	7.59±2.99 (n=10)	6.47±1.23 (n=10)	44.98±12.57 (n=24)	41.66±11.91 (n=24)
プレコーティング	7.85±3.43 (n=9)	6.49±2.20 (n=9)	40.73±16.88 (n=24)	39.14±16.18 (n=24)
9-バ7質 (hOP-1)	8.69±3.17 (n=17)	6.34±3.04 (n=17)	48.68±16.61 (n=24)	47.89±11.91 (n=24)

機械的試験の結果は、非コーティングサンプルに比較してHAコーティングサンプルの付着強度が増強されていることを示した。3週間で、タンパク質を伴うHAコーティングインプラントで最も強い固定が認められた。

組織学的分析では、非コーティングサンプルに対しすべてのHAコーティングで、差は有意ではないがより大きな骨内方

成長が示された。骨内方成長%は、タンパク質が存在するHAコーティングインプラントおよび非コーティングインプラントが最も大きかった。直線回帰分析により、付着強度は孔構造への骨成長量、HAコーティングの存在、およびタンパク質の存在により推定されることが示された。

実施例2

チタンは金属補綴物を製造するのにしばしば用いられる。これらの補綴物の表面は、酸化チタン層を含む。従って、酸化チタン自身を、OP-1に対するキャリアとして扱われる可能性、および一般に骨形成プロセスとの生体適合性に対して評価した。酸化チタンおよびOP-1（配列番号1の293-431残基）の組み合わせを含むインプラントのインビボでの生物学的活性を、ラットの皮下および筋肉内アッセイで試験した。インプラントは、30ngの酸化チタンに処方した0、6.25、12.5、25、または50μgのOP-1を含んだ。

インプラントをエタノール/TFA凍結乾燥法の変法により処方した。酸化チタンペレットをすりつぶし、250~420ミクロンの粒子サイズとなるように篩にかけた。これらの粒子30ngを、OP-1を全く含まないかまたはOP-1を種々の濃度で含む、45%エタノール、0.09%トリフルオロ酢酸50μlづつと混合した。4℃で3時間後、サンプルを凍らせ、凍結乾燥し、そしてラットに移植した。

インビボで12日後、インプラントを取り出し、アルカリホ

スファターゼ比活性、カルシウム含量、および組織学的微候により骨形成について評価した。この結果により、OP-1は、皮下および筋肉内の両インプラント部位でOP-1の各濃度での骨の形成を誘導することが示された。酸化チタンにOP-1を加えなかった場合、骨は形成されなかった。インプラントのカルシウム含量により定量される骨の量は、骨のコラーゲンキャリアを用いて得られる量と類似している。従って、チタンは骨形成タンパク質に対して有用なキャリアであり、そして骨形成プロセスと生体適合性である。

実施例 3

標準的な歯科用補綴物における本発明の方法の効力は、以下のモデルおよびプロトコルを用いて評価され得る。上顎および下顎の切歯および下顎犬歯を、数匹（例えば3匹）の雄のカニイザル（*Macaca fascicularis*）（4～6 kg）から、ケタミン麻酔法およびリドケイン局所浸潤麻酔下で抜歯した。止血を圧迫法で行った。

結果的に得られた歯のない歯槽に、(a)コラーゲンマトリックス(CM)、(b)骨形成タンパク質（例えば、上記の実施例1で用いた組換え生産OP1タンパク質）を含むコラーゲンマトリックス（例えば骨形成デバイス）のいずれかを詰めるか、または(c)未処理のままとする。チタン製のタッピンネジ式口腔内骨内インプラント（Nobelpharma, Chicago, Ill）を、ネジの先端を最小限でとりつけることにより、すべての歯槽中に挿

入した。粘膜炎性骨膜弁は、その下にある組織から切り離され、当該医療分野で既知である標準的な手術法を用いて主な創傷閉鎖を得るのに用いられる。

3週間後、動物をペントバルビタールの致死注入およびバラホルムアミド-グルタルアルデヒドでの灌流により屠殺した。次いで、顎を解剖し、適当な歯槽を含むブロックを切除し、さらに天然の緩衝ホルマリン中に固定し、ギ酸およびクエン酸ナトリウム中で脱灰し、プラスチック中に包埋し、そして塩基性フクシンおよびトルイジンブルーで染色する。次いで、切片を光学顕微鏡により分析する。好ましくは、コンピューター補助組織形態測定分析が、新たな組織の評価に用いられる（例えば、Image 1.27およびQuick Capture®(Data Translation, Inc. Marlboro, MA 07152)）。

骨形成デバイスを含む歯槽は、3週間以内で、チタニンインプラントの貫通表面に密接した位置での新たな骨の形成を誘導することが理解される。対して、コラーゲンマトリックスのみで処理した歯槽、またはコラーゲンマトリックスおよび骨形成タンパク質の両方を含まない歯槽は、インプラント表面に密接した位置で骨形成を示した微候がみられなかった。

均等物

当業者は、通常のな実験のみを用いて、本明細書中に記載のかかる事項に対し、多くの均等物があることを確定することが可能である。このような均等物は、以下の請求の範囲に

より包含されることが意図される。

（以下余白）

配列表

(i)一般的情報：

(i)出願人：

(A)名称：クリエイティブ バイオモレキュールズ、
インコーポレイテッド
(B)番地：サウス ストリート 35
(C)市：ホプキントン
(D)州：マサチューセッツ
(E)国：アメリカ合衆国
(F)郵便番号：01748
(G)電話：1-508-435-9001
(H)テレファックス：1-508-435-0454
(I)テレックス：

(A)名称：ストライカー バイオテック
(B)番地：ワン アップル ヒル
(C)市：ネイティック
(D)州：マサチューセッツ
(E)国：アメリカ合衆国
(F)郵便番号：01760
(G)電話：1-508-653-2280
(H)テレファックス：1-508-653-2770
(I)テレックス：

(ii)発明の名称：増強された骨形成特性を有する補綴デバイス

(iii)配列数：22

(iv)連絡住所：

(A)住所人：クリエイティブ バイオモレキュールズ、
インコーポレイテッド
(B)番地：サウス ストリート 35
(C)市：ホプキントン
(D)州：マサチューセッツ
(E)国：アメリカ合衆国
(F)郵便番号：01748

(v)コンピューター読み出し形態：

(A)媒体型：フロッピーディスク
(B)コンピューター：IBM PC互換用
(C)OS：PC-DOS/MS-DOS
(D)ソフトウェア：パテントイン リリース #1.0、バージョン #1.25

(vi)現在の出願データ：

(A)出願番号：
(B)出願日：
(C)分類：

(viii) 代理人/事務所情報:

(A) 氏名: ビンチャー エスク, エドマンド アール.
(B) 登録番号: 27,829
(C) 照会/記録番号: STK-057

(ix) 電話回線情報:

(A) 電話: 617/248-7000

(2) 配列番号: I の情報:

(i) 配列の特色:

(A) 長さ: 1822塩基対
(B) 型: 核酸
(C) 鎖の数: 一本鎖
(D) トポロジー: 直鎖状

(ii) 配列の種類: cDNA

(iii) ハイボセティカル配列: NO

(iv) アンチセンス: NO

(vi) 起源:

(A) 生物名: ヒト
(F) 組織の種類: 海馬

(ix) 配列の特徴:

(A) 特徴を表す記号: CDS
(B) 位置: 49..1341
(C) 配列を決定した方法: E (実験による)
(D) 他の情報: 機能 = 「骨形成タンパク質」
/産物 = 「OP1」
/証拠 = 実験による
/標準名 = 「OP1」

(以下余白)

(xi) 配列: 配列番号: I:

GGTCCGGGCC CGGAGCCCGG AGCCCGGGA GCGGTAGAG CCGGGCG ATG CAC CTG 57
Met His Val
1
CGC TCA CTG CGA GCT GCG GCG CCG CAC AGC TTC GTG GCG CTC TGG GCA 105
Arg Ser Leu Arg Ala Ala Pro His Ser Phe Val Ala Leu Trp Ala
5 10 15
CGG CTG TTC CTG CTG GCG TCC GCC CTG GCC GAC TTG AGG CTG GAC AAC 153
Pro Leu Phe Leu Leu Arg Ser Ala Leu Ala Asp Phe Ser Leu Asp Asn
20 25 30 35
GAG GTG CAC TCG AGC TTC ATC CAC CGG CGC CTC CGC AGC CAG GAG CCG 201
Glu Val His Ser Ser Phe Ile His Arg Arg Leu Arg Ser Gln Glu Arg
40 45 50
CGG GAG ATG CAG CGC GAG ATC CTC TCC ATT TTG GGC TTG CCC CAC CGC 249
Arg Glu Met Gln Arg Glu Ile Leu Ser Ile Leu Gly Leu Pro His Arg
55 60 65
CGC CGC CGC CAC CTC CAG GGC AAG CAC AAC TCG GCA CCC ATG TTC ATG 297
Pro Arg Pro His Leu Gln Gly Lys His Asn Ser Ala Pro Met Phe Met
70 75 80
CTG CAC CTG TAC AAC GCC ATG GCG GTG GAG GAG GGC GGC GGC CCC GGC 345
Leu Asp Leu Tyr Asn Ala Met Ala Val Glu Glu Gly Gly Gly Pro Gly
85 90 95
GGC CAG GGC TTC TCC TAC CCC TAC AAG GCC GTC TTC AGT ACC CAG GGC 393
Gly Gln Gly Phe Ser Tyr Pro Tyr Lys Ala Val Phe Ser Thr Gln Gly
100 105 110 115

(以下余白)

CGC CCT CTG GCG AGC CTG CAA GAT AGC CAT TTC CTC ACC GAC GCC GAC 441
Pro Pro Leu Ala Ser Leu Gln Asp Ser His Phe Leu Thr Asp Ala Asp
120 125 130
ATG GTC ATG AGC TTC GTC AAC CTC GTG GAA CAT GAC AAG GAA TTC TTC 489
Met Val Met Ser Phe Val Asn Leu Val Glu His Asp Lys Glu Phe Phe
135 140 145
CAC CCA CGC TAC CAC CAT CGA GAG TTC CGG TTT GAT CTT TCC AAG ATC 537
His Pro Arg Tyr His His Arg Glu Phe Arg Phe Asp Leu Ser Lys Ile
150 155 160
GCA GAA GGG GAA GCT GTC ACG GCA GCG GAA TTG CCG ATC TAC AAG GAC 585
Pro Glu Gly Glu Ala Val Thr Ala Ala Glu Phe Arg Ile Tyr Lys Asp
165 170 175
TAC ATC CGG GAA CGC TTC GAC AAT GAG ACG TTC CGG ATC AGC GTT TAT 633
Tyr Ile Arg Glu Arg Phe Asp Asn Glu Thr Phe Arg Ile Ser Val Tyr
180 185 190 195
CAG GTG CTC CAG GAG CAC TTG GCG AGG GAA TCG GAT CTC TTC CTG CTC 681
Gln Val Leu Gln Glu His Leu Gly Arg Glu Ser Asp Leu Phe Leu Leu
200 205 210
GAC AGC CCG ACC CTC TGG GCC TCG GAG GAG GCG TGG CTG GTG TTT GAC 729
Asp Ser Arg Thr Leu Trp Ala Ser Glu Glu Gly Trp Leu Val Phe Asp
215 220 225
ATC ACA GCC ACC AGC AAC CAC TGG GTG GTC AAT CCG CGG CAC AAC CTG 777
Ile Thr Ala Thr Ser Asn His Trp Val Val Asn Pro Arg His Asn Leu
230 235 240
GGC CTG CAG CTC TCG GTG GAG ACG CTG GAT GCG CAG AGC ATC AAG CCC 825
Gly Leu Gln Leu Ser Val Glu Thr Leu Asp Gly Gln Ser Ile Asn Pro
245 250 255
AAG TTG GCG GCG CTG ATT GCG CGG CAC GGC CCC CAG AAC AAG CAG CCC 873
Lys Leu Ala Gly Leu Ile Gly Arg His Gly Pro Gln Asn Lys Lys
260 265 270 275
TTC ATG GTG GCT TTC TTC AAG GCC ACG GAG GTC CAC TTC CGC AGG ATC 921
Phe Met Val Ala Phe Phe Lys Ala Thr Glu Val His Phe Arg Ser Ile
280 285 290
CGG TCC ACG GGG AGC AAA CAG CGC AGC CAG AAC CGC TGG AAG ACG CCC 969
Arg Ser Thr Gly Ser Lys Gln Arg Ser Gln Asn Arg Ser Lys Thr Pro
295 300 305
AAG AAC CAG GAA GCC CTG CGG ATG GCC AAC GTG GCA CAG AAC ACG AGC 1017
Lys Asn Gln Glu Ala Leu Arg Met Ala Asn Val Ala Glu Asn Ser Ser
310 315 320

AGC GAC CAG AGG CAG GCC TGT AAG AAG CAC GAG CTG TAT GTC AGC TTC 1065
Ser Asp Gln Arg Gln Ala Cys Lys Lys His Glu Leu Tyr Val Ser Phe
325 330 335
CGA GAC CTG GCG TGG CAG GAC TGG ATC ATC GCG CCT GAA GGC TAC GCC 1113
Arg Asp Leu Gly Trp Gln Asp Trp Ile Ile Ala Pro Glu Gly Tyr Ala
340 345 350 355
GCC TAC TAC TGT CAG GCG GAG TGT GCC TTC CCT CTG AAC TCC TAC ATG 1161
Ala Tyr Tyr Cys Glu Gly Glu Cys Ala Phe Pro Leu Asn Ser Tyr Met
360 365 370
AAG GCC ACC AAG CAC GCC ATC GTG CAG ACG CTG GTC CAC TTC ATG AAC 1209
Asn Ala Thr Asn His Ala Ile Val Gln Thr Leu Val His Phe Ile Asn
375 380 385
CGG GAA ACG GTG CCG AAG CCC TGC TGT GCG CCC ACG CAG CTC AAT GCC 1257
Pro Glu Thr Val Pro Lys Pro Cys Cys Ala Pro Thr Gln Leu Asn Ala
390 395 400
ATC TCG GTG CTC TAC TTC GAT GAC AGC TCC AAC GTC ATC CTG AA: AAA 1305
Ile Ser Val Leu Tyr Phe Asp Asp Ser Ser Asn Val Ile Leu Lys Lys
405 410 415
TAC AGA AAC ATG GIG GTC CCG GCC TGT GCG TGC CAC TAGCTCTCC 1351
Tyr Arg Asn Met Val Val Arg Ala Cys Gly Cys His
420 425 430
GAGAAITCAG ACCCTTTTGG GCCAAGTTTT TCTGGATCCT CCATTGCTCG CTTTGCCAG 1411
GAACCAAGCAG ACCAACTGGC TTITGTGAGA CTTTCCCTCC CTTATCCCCA ACTTTAAAG 1471
TGTGAGAGTA TTAGGAAACA TGAGCAGCAT ATGGCTTTTG ATCAGTTTTT CAGTGGCAGC 1531
ATCCAATGAA CAAGATCCTA CAAGCTGTGC AGGCAAAACC TAGCAGGAAA AAAAAACAC 1591
GCATAAAGAA AAATGGCCGG GCCAGTCAT TGGCTGGAA GTCTCAGCCA TGCAACGACT 1651
GGTTTCAGAA GGTAATTATG AGCGCTTACC AGCCAGGCCA CCGACCGGTG GGAGGAAGGG 1711
GGCTGGCAAA GGGGTGGCA CATTGGTGTG TGTGCAAGAG GAAATTTGAC CCGGAAGTTC 1771
CTGTAATAAA TGTCACAATA AAACGAATGA ATGAAAAAAA AAAAAAAAAA A 1822

(2) 配列番号: 2 の情報:

(i) 配列の特色:

(A) 長さ: 431アミノ酸
(B) 型: アミノ酸
(D) トポロジー: 直鎖状

(ii) 配列の種類: タンパク質

(xi)配列：配列番号：2：

Met His Val Arg Ser Leu Arg Ala Ala Pro His Ser Phe Val Ala
1 5 10 15
Leu Trp Ala Pro Leu Phe Leu Leu Arg Ser Ala Leu Ala Asp Phe Ser
20 25 30
Leu Asp Asn Glu Val His Ser Ser Phe Ile His Arg Arg Leu Arg Ser
35 40 45
Gln Glu Arg Arg Glu Met Gln Arg Glu Ile Leu Ser Ile Leu Gly Leu
50 55 60
Pro His Arg Pro Arg Pro His Leu Gln Gly His Asn Ser Ala Pro
65 70 75 80
Met Phe Met Leu Asp Leu Tyr Asn Ala Met Ala Val Glu Gly Gly
85 90 95
Gly Pro Gly Gly Gln Gly Phe Ser Tyr Pro Tyr Lys Ala Val Phe Ser
100 105 110
Thr Gln Gly Pro Pro Leu Ala Ser Leu Gln Asp Ser His Phe Leu Thr
115 120 125
Asp Ala Asp Met Val Met Ser Phe Val Asn Leu Val Glu His Asp Lys
130 135 140
Glu Phe Phe His Pro Arg Tyr His His Arg Glu Phe Arg Phe Asp Leu
145 150 155 160
Ser Lys Ile Pro Glu Gly Glu Ala Val Thr Ala Ala Glu Phe Arg Ile
165 170 175
Tyr Lys Asp Tyr Ile Arg Glu Arg Phe Asp Asn Glu Thr Phe Arg Ile
180 185 190
Ser Val Tyr Gln Val Leu Gln Glu His Leu Gly Arg Glu Ser Asp Leu
195 200 205
Phe Leu Leu Asp Ser Arg Thr Leu Trp Ala Ser Glu Glu Gly Trp Leu
210 215 220
Val Phe Asp Ile Thr Ala Thr Ser Asn His Trp Val Val Asn Pro Arg
225 230 235 240
His Asn Leu Gly Leu Gln Leu Ser Val Glu Thr Leu Asp Gly Gln Ser
245 250 255
Ile Asn Pro Lys Leu Ala Gly Leu Ile Gly Arg His Gly Pro Gln Asn
260 265 270

Leu Ala Asp His Phe Asn Ser Thr Asn His Ala Val Val Gln Thr Leu
35 40 45
Val Asn Ser Val Asn Ser Lys Ile Pro Lys Ala Cys Cys Val Pro Thr
50 55 60
Glu Leu Ser Ala Ile Ser Met Leu Tyr Leu Asp Glu Asn Glu Lys Val
65 70 75 80
Val Leu Lys Asn Tyr Gln Glu Met Val Val Glu Gly Cys Gly Cys Arg
85 90 95

(2)配列番号：4の情報：

(i)配列の特色：
(A)長さ：96アミノ酸
(B)型：アミノ酸
(C)鎖の数：一本鎖
(D)トポロジー：直鎖状

(ii)配列の種類：タンパク質

(ix)配列の特徴
(A)特徴を表す記号：Protein
(B)位置：1..96
(D)他の情報：／注記＝「COP-7」

(xi)配列：配列番号：4：

Leu Tyr Val Asp Phe Ser Asp Val Gly Trp Asn Asp Trp Ile Val Ala
1 5 10 15
Pro Pro Gly Tyr His Ala Phe Tyr Cys His Gly Glu Cys Pro Phe Pro
20 25 30
Leu Ala Asp His Leu Asn Ser Thr Asn His Ala Val Val Gln Thr Leu
35 40 45
Val Asn Ser Val Asn Ser Lys Ile Pro Lys Ala Cys Cys Val Pro Thr
50 55 60
Glu Leu Ser Ala Ile Ser Met Leu Tyr Leu Asp Glu Asn Glu Lys Val
65 70 75 80
Val Leu Lys Asn Tyr Gln Glu Met Val Val Glu Gly Cys Gly Cys Arg
85 90 95

Lys Gln Pro Phe Met Val Ala Phe Phe Lys Ala Thr Glu Val His Phe
275 280 285
Arg Ser Ile Arg Ser Thr Gly Ser Lys Gln Arg Ser Gln Asn Arg Ser
290 295 300
Lys Thr Pro Lys Asn Gln Glu Ala Leu Arg Met Ala Asn Val Ala Glu
305 310 315 320
Asn Ser Ser Ser Asp Gln Arg Gln Ala Cys Lys Lys His Glu Leu Tyr
325 330 335
Val Ser Phe Arg Asp Leu Gly Trp Gln Asp Trp Ile Ile Ala Pro Glu
340 345 350
Gly Tyr Ala Ala Tyr Tyr Cys Glu Gly Glu Cys Ala Phe Pro Leu Asn
355 360 365
Ser Tyr Met Asn Ala Thr Asn His Ala Ile Val Gln Thr Leu Val His
370 375 380
Phe Ile Asn Pro Glu Thr Val Pro Lys Pro Cys Cys Ala Pro Thr Gln
385 390 395 400
Leu Asn Ala Ile Ser Val Leu Tyr Phe Asp Asp Ser Ser Asn Val Ile
405 410 415
Leu Lys Lys Tyr Arg Asn Met Val Val Arg Ala Cys Gly Cys His
420 425 430

(2)配列番号：3の情報：

(i)配列の特色：
(A)長さ：98アミノ酸
(B)型：アミノ酸
(C)鎖の数：一本鎖
(D)トポロジー：直鎖状

(ii)配列の種類：タンパク質

(ix)配列の特徴
(A)特徴を表す記号：Protein
(B)位置：1..98
(D)他の情報：／注記＝「COP-5」

(xi)配列：配列番号：3：

Leu Tyr Val Asp Phe Ser Asp Val Gly Trp Asp Asp Trp Ile Val Ala
1 5 10 15
Pro Pro Gly Tyr Gln Ala Phe Tyr Cys His Gly Glu Cys Pro Phe Pro
20 25 30

(2)配列番号：5の情報：

(i)配列の特色：
(A)長さ：102アミノ酸
(B)型：アミノ酸
(C)鎖の数：一本鎖
(D)トポロジー：直鎖状

(ii)配列の種類：タンパク質

(vi)起源：
(A)生物名：キイロショウジョウバエ

(ix)配列の特徴
(A)特徴を表す記号：Protein
(B)位置：1..101
(D)他の情報：／ラベル＝DPP-FX

(xi)配列：配列番号：5：

Cys Arg Arg His Ser Leu Tyr Val Asp Phe Ser Asp Val Gly Trp Asp
1 5 10 15
Asp Trp Ile Val Ala Pro Leu Gly Tyr Asp Ala Tyr Tyr Cys His Gly
20 25 30
Lys Cys Pro Phe Pro Leu Ala Asp His Phe Asn Ser Thr Asn His Ala
35 40 45
Val Val Gln Thr Leu Val Asn Asn Asn Pro Gly Lys Val Pro Lys
50 55 60
Ala Cys Cys Val Pro Thr Gln Leu Asp Ser Val Ala Met Leu Tyr Leu
65 70 75 80
Asn Asp Gln Ser Thr Val Val Leu Lys Asn Tyr Gln Glu Met Thr Val
85 90 95
Val Gly Cys Gly Cys Arg
100

(2)配列番号：6の情報：

(i)配列の特色：
(A)長さ：102アミノ酸
(B)型：アミノ酸
(C)鎖の数：一本鎖
(D)トポロジー：直鎖状

(ii)配列の種類：タンパク質

(vi)起源:

(A)生物名: アフリカツメガエル

(ix)配列の特徴

(A)特徴を表す記号: Protein

(B)位置: 1..102

(D)他の情報: /ラベル=VG1-FX

(xi)配列: 配列番号: 6:

Cys Lys Lys Arg His Leu Tyr Val Glu Phe Lys Asp Val Gly Trp Gln
1 5 10 15
Asn Trp Val Ile Ala Pro Gln Gly Tyr Met Ala Asn Tyr Cys Tyr Gly
20 25 30
Glu Cys Pro Tyr Pro Leu Thr Glu Ile Leu Asn Gly Ser Asn His Ala
35 40 45
Ile Leu Gln Thr Leu Val His Ser Ile Glu Pro Glu Asp Ile Pro Leu
50 55 60
Pro Cys Cys Val Pro Thr Lys Met Ser Pro Ile Ser Met Leu Phe Tyr
65 70 75 80
Asp Asn Asn Asp Asn Val Val Leu Arg His Tyr Glu Asn Met Ala Val
85 90 95
Asp Glu Cys Gly Cys Arg
100

(2)配列番号: 7の情報:

(i)配列の特色:

(A)長さ: 102アミノ酸

(B)型: アミノ酸

(C)鎖の数: 一本鎖

(D)トポロジー: 直鎖状

(ii)配列の種類: タンパク質

(vi)起源:

(A)生物名: ネズミ科

(ix)配列の特徴

(A)特徴を表す記号: Protein

(B)位置: 1..102

(D)他の情報: /ラベル=VGR-1-FX

(xi)配列: 配列番号: 7:

Cys Lys Lys His Gly Leu Tyr Val Ser Phe Gln Asp Val Gly Trp Gln
1 5 10 15
Asp Trp Ile Ile Ala Pro Xaa Gly Tyr Ala Ala Asn Tyr Cys Asp Gly
20 25 30
Glu Cys Ser Phe Pro Leu Asn Ala His Met Asn Ala Thr Asn His Ala
35 40 45
Ile Val Gln Thr Leu Val His Val Met Asn Pro Glu Tyr Val Pro Lys
50 55 60
Pro Cys Cys Ala Pro Thr Lys Val Asn Ala Ile Ser Val Leu Tyr Phe
65 70 75 80
Asp Asp Asn Ser Asn Val Ile Leu Lys Lys Tyr Arg Asn Met Val Val
85 90 95
Arg Ala Cys Gly Cys His
100

(2)配列番号: 8の情報:

(i)配列の特色:

(A)長さ: 1873塩基対

(B)型: 核酸

(C)鎖の数: 一本鎖

(D)トポロジー: 直鎖状

(ii)配列の種類: cDNA

(iii)ハイボセティカル配列: NO

(iv)アンチセンス: NO

(vi)起源:

(A)生物名: ネズミ科

(F)組織の種類: 胚

(ix)配列の特徴

(A)特徴を表す記号: CDS

(B)位置: 104..1393

(D)他の情報: /機能=「骨形成タンパク質」

/産物=「WOP1」

/注記=「WOP1 (cDNA)」

(xi)配列: 配列番号: 8:

CTGCAGCAAG TGACCTCGGG TCGTGACCG CTGCCCTGCC CCTCCGGTG CCACCTGGGG	60	CGG GAG CGA TTT GAC AAC GAG ACC TTC CAG ATC ACA GTC TAT CAG GTG	691
CGCGCGCGGG CCGGTGCCCC GGATGCGCGG TAGAGCCGGG GCG ATG CAC GTG GCG	115	Arg Glu Arg Phe Asp Asn Glu Thr Phe Gln Ile Thr Val Tyr Gln Val	185 190 195
TCG CTG CGC GCT GCG GCG CCA CAC AGC TTC GTG GCG CTC TGG GCG CCT	163	CTC CAG GAG CAC TCA GCG AGG GAG TCG GAC CTC TTC TTG CTG GAC AGC	739
Ser Leu Arg Ala Ala Pro His Ser Phe Val Ala Leu Trp Ala Pro	5 10 15 20	Leu Gln Glu His Ser Gly Arg Glu Ser Asp Leu Phe Leu Leu Asp Ser	200 205 210
CTG TTC TTG CTG CGC TCC GCC CTG GCC GAT TTC AGC CTG GAC AAC GAG	211	CGC ACC ATC TGG GCT TCT GAG GAG GCG TGG TTG GTG TTT GAT ATC ACA	787
Leu Phe Leu Leu Arg Ser Ala Leu Ala Asp Phe Ser Leu Asp Asn Glu	25 30 35	Arg Thr Ile Trp Ala Ser Glu Glu Gly Trp Leu Val Phe Asp Ile Thr	215 220 225
GTG CAC TCC AGC TTC ATC CAC CGG GCG CTC GCG AGC CAG GAG CGG CGG	259	GCC ACC AGC AAC CAC TGG GTG GTC AAC CCT CGG CAC AAC CTG GCG TTA	835
Val His Ser Ser Phe Ile His Arg Arg Leu Arg Ser Gln Glu Arg Arg	40 45 50	Ala Thr Ser Asn His Trp Val Val Asn Pro Arg His Asn Leu Gly Leu	230 235 240
GAG ATG CAG CGG CAG ATC CTG TCC ATC TTA GGG TTG CCC CAT GCG CCG	307	CAG CTC TCT GTG GAG ACC CTG GAT GGG CAG AGC ATC AAC CCC AAG TTG	883
Glu Met Gln Arg Glu Ile Leu Ser Ile Leu Gly Leu Pro His Arg Pro	55 60 65	Gln Leu Ser Val Glu Thr Leu Asp Gly Gln Ser Ile Asn Pro Lys Leu	245 250 255 260
GCG CCG CAC CTC CAG GGA AAC CAT AAT TCG GCG CCC ATG TTC ATG TTC	355	GCA GGC CTG ATT GGA CCG CAT GGA CCC CAG AAC AAG CAA CCC TTC ATG	931
Arg Pro His Leu Gln Gly Lys His Asn Ser Ala Pro Met Phe Met Leu	70 75 80	Ala Gly Leu Ile Gly Arg His Gly Pro Gln Asn Lys Gln Pro Phe Met	265 270 275
CAC CTG TAC AAC GCC ATG GCG GTG GAG GAG AGC GCG CCG GAC GGA CAG	403	GTG GCC TTC TTC AAG GCC ACG GAA GTC CAT CTC CGT AGT ATC GCG TCC	979
Asp Leu Tyr Asn Ala Met Ala Val Glu Glu Ser Gly Pro Asp Gly Gln	85 90 95 100	Val Ala Phe Phe Lys Ala Thr Glu Val His Leu Arg Ser Ile Arg Ser	280 285 290
GGC TTC TCC TAC CCC TAC AAG GCC GTC TTC AGT ACC CAG GCG CCC CCT	451	ACG GCG GCG AAG CAG CCG AGC CAG AAT CCG TCC AAG ACG CCA AAG AAC	1027
Gly Phe Ser Tyr Pro Tyr Lys Ala Val Phe Ser Thr Gln Gly Pro Pro	105 110 115	Thr Gly Gly Lys Lys Gln Arg Ser Gln Asn Arg Ser Lys Thr Pro Lys Asn	295 300 305
TTA GCC AGC CTG CAG GAC AGC CAT TTC CTC ACT GAC GCC CAG ATG GTC	499	CAA GAG GCC CTG AGG ATG GCC AGT GTG GCA GAA AAC AGC AGC AGT GAC	1075
Leu Ala Ser Leu Gln Asp Ser His Phe Leu Thr Asp Ala Asp Met Val	120 125 130	Gln Glu Ala Leu Arg Met Ala Ser Val Ala Glu Asn Ser Ser Ser Asp	310 315 320
ATG AGC TTC GTC AAC CTA GTG GAA CAT GAC AAA GAA TTC TTC CAC CCT	547	CAG AGG CAG GCC TGC AAG AAA CAT GAG CTG TAC GTC AGC TTC CGA GAC	1123
Met Ser Phe Val Asn Leu Val Glu His Asp Lys Glu Phe Phe His Pro	135 140 145	Gln Arg Gln Ala Cys Lys Lys His Glu Leu Tyr Val Ser Phe Arg Asp	325 330 335 340
CGA TAC CAC CAT CCG GAG TTC CCG TTT GAT CTT TCC AAG ATC CCC GAG	595	CTT GGC TGG CAG GAC TGG ATC ATT GCA CCT GAA GGC TAT GCT GCC TAC	1171
Arg Tyr His His Arg Glu Phe Arg Phe Asp Leu Ser Lys Ile Pro Glu	150 155 160	TAC TGT GAG GGA GAG TGC GCC TTC CCT CTG AAC TCG TAC ATG AAC GCC	1219
GCC GAA CCG GTC ACC CCA GCG GAA TTC AGG ATC TAT AAG GAC TAC ATC	643	Tyr Cys Glu Gly Glu Cys Ala Phe Pro Leu Asn Ser Tyr Met Asn Ala	345 350 355 360 365 370
Gly Glu Arg Val Thr Ala Ala Glu Phe Arg Ile Tyr Lys Asp Tyr Ile	165 170 175 180	ACC AAC CAC GCC ATC GTC CAG ACA CTG GTT CAC TTC ATC AAC CCA GAC	1267
		Thr Asn His Ala Ile Val Gln Thr Leu Val His Phe Ile Asn Pro Asp	375 380 385

特表平7-504680 (16)

ACA CTA CCC AAG GCC TGC TGT GCG CCC ACC CAG CTC AAC GCC ATC TCT 1315
 Thr Val Pro Lys Pro Cys Cys Ala Pro Thr Gln Leu Asn Ala Ile Ser
 390 395 400

GTC CTC TAC TTC CAC CAC AGC TCT AAT GTG GAC GTG AAG AAG TAC AGA 1363
 Val Leu Tyr Phe Asp Asp Ser Ser Asn Val Asp Leu Lys Lys Tyr Arg
 405 410 415 420

AAC ATG GTG GTC CGG GCC TGT GGC TGC CAC TAGCTCTCC TGAGACCTTG 1413
 Asn Met Val Val Arg Ala Cys Gly Cys His
 425 430

ACCTTTGGGG GGCCACACCT TTCCAAATCT TCCATGCTC ACCATCTAAG TCTCTCACTG 1473

CCCACCTTGG CCAGGAGAAC AGACCAACCT CTCTGAGGC TTCCCTCACC TCCCAACGGG 1533

AAGCATGTAA GGGTTCGAGA AACCTGAGCG TGCAGCAGCT GATCAGCGCC CTTCCTTCT 1593

GGCAGCTGAC GGACAAAGATC CTACCAGCTA CCACAGCAAA CGCTAAGAG CAGGAAAAAT 1653

GTGTGCCAGG AAAGTGTCCA GTGTCCACAT GGGCCCTGGC GCCTGAGTC TTGAGGAGT 1713

AATCGCAAGC CTCGTTCCAG TGCAGCAGAA GGAAGGGCTT AGCCAGGGTG GGCCTGGCG 1773

TCTGTGTGA AGGGAACCA AGCAGAGGCC ACTGTAATCA TATGTACAAA TAAAACCCAT 1833

GAATGAAAAA AAAAAAAA AAAAAAAA AAAAGAATTC 1873

(2)配列番号: 9の情報は:

- (i)配列の特色:
 (A)長さ: 430アミノ酸
 (B)型: アミノ酸
 (D)トポロジー: 直鎖状

(ii)配列の種類: タンパク質

(xi)配列: 配列番号: 9:

Met His Val Arg Ser Leu Arg Ala Ala Pro His Ser Phe Val Ala
 1 5 10 15

Leu Trp Ala Pro Leu Phe Leu Leu Arg Ser Ala Leu Ala Asp Phe Ser
 20 25 30

Leu Asp Asn Glu Val His Ser Ser Phe Ile His Arg Arg Leu Arg Ser
 35 40 45

Gln Glu Arg Arg Glu Met Gln Arg Glu Ile Leu Ser Ile Leu Gly Leu
 50 55 60

Pro His Arg Pro Arg Pro His Leu Gln Gly Lys His Asn Ser Ala Pro 65
 70 75 80

Het Phe Met Leu Asp Leu Tyr Asn Ala Met Ala Val Glu Glu Ser Gly 85
 90 95

Pro Asp Gly Gln Gly Phe Ser Tyr Pro Tyr Lys Ala Val Phe Ser Thr 100
 105 110

Gln Gly Pro Pro Leu Ala Ser Leu Gln Asp Ser His Phe Leu Thr Asp 115
 120 125

Ala Asp Met Val Het Ser Phe Val Asn Leu Val Glu His Asp Lys Glu 130
 135 140

Phe Phe His Pro Arg Tyr His His Arg Glu Phe Arg Phe Asp Leu Ser 145
 150 155 160

Lys Ile Pro Glu Gly Glu Arg Val Thr Ala Ala Glu Phe Arg Ile Tyr 165
 170 175

Lys Asp Tyr Ile Arg Glu Arg Phe Asp Asn Glu Thr Phe Gln Ile Thr 180
 185 190

Val Tyr Gln Val Leu Gln Glu His Ser Gly Arg Glu Ser Asp Leu Phe 195
 200 205

Leu Leu Asp Ser Arg Thr Ile Trp Ala Ser Glu Glu Gly Trp Leu Val 210
 215 220

Phe Asp Ile Thr Ala Thr Ser Asn His Trp Val Val Asn Pro Arg His 225
 230 235 240

Asn Leu Gly Leu Gln Leu Ser Val Glu Thr Leu Asp Gly Gln Ser Ile 245
 250 255

Asn Pro Lys Leu Ala Gly Leu Ile Gly Arg His Gly Pro Gln Asn Lys 260
 265 270

Gln Pro Phe Het Val Ala Phe Phe Lys Ala Thr Glu Val His Leu Arg 275
 280 285

Ser Ile Arg Ser Thr Gly Gly Lys Gln Arg Ser Gln Asn Arg Ser Lys 290
 295 300

Thr Pro Lys Asn Gln Glu Ala Leu Arg Met Ala Ser Val Ala Glu Asn 305
 310 315 320

Ser Ser Ser Asp Gln Arg Gln Ala Cys Lys Lys His Glu Leu Tyr Val 325
 330 335

Ser Phe Arg Asp Leu Gly Trp Gln Asp Trp Ile Ile Ala Pro Glu Gly 340
 345 350

Tyr Ala Ala Tyr Tyr Cys Glu Gly Glu Cys Ala Phe Pro Leu Asn Ser 355
 360 365

Tyr Met Asn Ala Thr Asn His Ala Ile Val Gln Thr Leu Val His Phe 370
 375 380

Ile Asn Pro Asp Thr Val Pro Lys Pro Cys Cys Ala Pro Thr Gln Leu 385
 390 395 400

Asn Ala Ile Ser Val Leu Tyr Phe Asp Asp Ser Ser Asn Val Asp Leu 405
 410 415

Lys Lys Tyr Arg Asn Met Val Val Arg Ala Cys Gly Cys His 420
 425 430

(2)配列番号: 10の情報は:

- (i)配列の特色:
 (A)長さ: 1723塩基対
 (B)型: 核酸
 (C)鎖の数: 一本鎖
 (D)トポロジー: 直鎖状

(ii)配列の種類: cDNA

(vi)起源:

- (4)生物名: ヒト
 (F)組織の種類: 海馬

(ix)配列の特色:

- (A)特徴を表す記号: CDS
 (B)位置: 490..1696
 (D)他の情報: /機能=「骨形成タンパク質」
 /産物=「hOP2-PP」
 /注記=「hOP2 (cDNA)」

(xi)配列: 配列番号: 10:

GGCGCCGCGA GAGCAGGACT GGCTGAGGA GCCTGGTGT CAGCAGGAGG TGGCAGGCA 60

GGCTGGAGG GCTCCCTATG AGTGGCGGAG AGGCGCTGGA GCAACAGCTC 120

CCACACCGCA CCAAGCGGTG GCTGCAGGAG CTCGCCATC GCCCTGGCG TGCTGGGACC 180

GGCGCCAGAG CCGGACTGGC GGGTACGGCG GCGACAGAGG CATTGCGGA GAGTCCAGT 240

CCGCACACTA GCGCGCGGCT CGAGCGGGTG GCTCCCGGT CTCTCGGTC CAGGAGCCAG 300

CACAGGTGTC GCGCGCGGGG GCTCCAGGGA CCGCGCTGA GCGCGCTGC CCGCGCGTCC 360

GGCGCGGCCC GCGCGCGCGC GCGCGCGCCA GCCAGCGTCT CTGGCGCTCG GGGCGTCCCG 420

AGGCGCTGGG TCGGCGCGGG AGCGGATGCG CGCGCGCTGA GCGCGCCAGC TGAGCGCCCC 480

CGGCGTGGC ATG ACC GCG CTC CCC GGC CCG CTC TGG CTC GTG GGC CTG 528
 Met Thr Ala Leu Pro Gly Pro Leu Trp Leu Leu Gly Leu
 1 5 10

GCG CTA TGC GCG CTG GGC GGG GGC GGC CCC GGC CTG CCA CCC CCG CCC 576
 Ala Leu Cys Ala Leu Gly Gly Gly Pro Gly Leu Arg Pro Pro Pro
 15 20 25

GCG TGT CCC CAG CCA CGT CTG GGC GCG CCG CAG CCG CCG GAC GTG CAG 624
 Gly Cys Pro Gln Arg Arg Leu Gly Ala Arg Glu Arg Arg Asp Val Gln
 30 35 40 45

GCG CAG ATC CTG GCG GTG CTC GGC CTG CCT GCG CGG CCC CGG CCC CGC 672
 Arg Glu Ile Leu Ala Val Leu Gly Leu Pro Gly Arg Pro Arg Pro Arg
 50 55 60

GCG CCA CCC GCG GCC TCC CGG CTG CCC GCG TCC GCG CCG CTC TTC ATG 720
 Ala Pro Pro Ala Ala Ser Arg Leu Pro Ala Ser Ala Pro Leu Phe Met
 65 70 75

CTG CAC CTG TAC CAC GCC ATG CCC GGC CAC CAC CAG CAG CAG GGC GGC 768
 Leu Asp Leu Tyr His Ala Met Ala Gly Asp Asp Asp Glu Asp Gly Ala
 80 85 90

CCC GCG GAG CCG CGC CTG GGC GGC GCC CAG CTG CTC ATG AGC TTC GTT 816
 Pro Ala Glu Arg Arg Leu Gly Arg Ala Asp Leu Val Met Ser Phe Val
 95 100 105

AAC ATG GTG GAG CCA GAC CGT GCC CTG GGC CAC CAG CAG CCC CAT TGG 864
 Asn Met Val Glu Arg Asp Arg Ala Leu Gly His Gln Glu Pro His Trp
 110 115 120 125

AAG GAG TTC GCG TTT GAC CTG ACC CAG ATC CCG GCT GCG CAG GCG GTC 912
 Lys Glu Phe Arg Phe Asp Leu Thr Gln Ile Pro Ala Gly Glu Ala Val
 130 135 140

ACA GCT GCG GAG TTC CGG ATT TAC AAG CTG CCC AGC ATC CAC CTG CTC 960
 Thr Ala Ala Glu Phe Arg Ile Tyr Lys Val Pro Ser Ile His Leu Leu
 145 150 155

AAC AGG ACC CTC CAC GTC AGC ATG TTC CAG GTG CTC CAG CAG CAG TGC 1008
 Asn Arg Thr Leu His Val Ser Met Phe Gln Val Val Gln Glu Gln Ser
 160 165 170

AAC AGG CAG TCT GAC TTG TTC TTT TTG CAT CTT CAG AGC CTC CGA GCT 1056
 Asn Arg Glu Ser Asp Leu Phe Leu Asp Leu Gln Thr Leu Arg Ala
 175 180 185

GGA GAC GAG GGC TGG CTG GTG GAT GTC ACA GCA GCC AGT GAC TGC 1104
Gly Asp Glu Gly Trp Leu Val Leu Asp Val Thr Ala Ala Ser Asp Cys
190 195 200 205

TGG TTG CTG AAG GGT CAC AAG GAC CTG GGA CTC GGC CTC TAT GTG GAG 1152
Trp Leu Leu Lys Arg His Lys Asp Leu Gly Leu Arg Leu Tyr Val Glu
210 215 220

ACT GAG GAC GGG CAC AGC GTG GAT CCT GGC CTG GGC GGC CTG CTG GGT 1200
Thr Glu Asp Gly His Ser Val Asp Pro Gly Leu Ala Gly Leu Leu Gly
225 230 235

CAA GGG GGC CCA GGC TCC CAA CAG CCT TTC GTG GTC ACT TTC TTC AGG 1248
Gln Arg Ala Pro Arg Ser Gln Gln Pro Phe Val Val Thr Phe Phe Arg
240 245 250

GCC AGT CCG AGT CCC ATC CGC ACC CCT CGG GCA GTG AGG CCA CTG AGG 1296
Ala Ser Pro Ser Pro Ile Arg Thr Pro Arg Ala Val Arg Pro Leu Arg
255 260 265

AGG AGG CAG CCG AAG AAA AGC AAC GAG CTG CCG CAG GCC AAC CGA CTC 1344
Arg Arg Gln Pro Lys Lys Ser Asn Glu Leu Pro Gln Ala Asn Arg Leu
270 275 280 285

CCA GGG ATC TTT GAT GAC GTC CAC GGC TCC CAG GGC CAG GTC TGC 1392
Pro Gly Ile Phe Asp Asp Val His Gly Ser His Gly Arg Gln Val Cys
290 295 300

CCT CGG CAC GAG CTC TAC GTC AGC TTC CAG GAC CTC GGC TGG CTG GAC 1440
Arg Arg His Glu Leu Tyr Val Ser Phe Gln Asp Leu Gly Trp Leu Asp
305 310 315

TGG GTC ATC GCT CCC CAA GGC TAC TGG GCT TAT TAC TGT CAG GGG GAG 1488
Trp Val Ile Ala Pro Gln Gly Tyr Ser Ala Tyr Tyr Cys Glu Gly Glu
320 325 330

TGC TCC TTC CCA CTG GAC TCC TGC ATG AAT GCC ACC AAC CAC GCC ATC 1536
Cys Ser Phe Pro Leu Asp Ser Cys Met Asn Ala Thr Asn His Ala Ile
335 340 345

CTG CAG TCC CTG GTG CAC CTG ATG AAG CCA AAC GCA GTC CCC AAG GCG 1584
Leu Gln Ser Leu Val His Leu Met Lys Pro Asn Ala Val Pro Lys Ala
350 355 360 365

TGC TGT GCA CCC ACC AAG CTG AGC GCC ACC TCT GTG CTC TAC TAT GAC 1632
Cys Cys Ala Pro Thr Lys Leu Ser Ala Thr Ser Val Leu Tyr Tyr Asp
370 375 380

AGC AGC AAC AAC GTC ATC CTG CGG AAA GCC CGC AAC ATG GTG GTC AAG 1680
Ser Ser Asn Asn Val Ile Leu Arg Lys Ala Arg Asn Met Val Val Lys
385 390 395 400

GCC TGC GGC TGC CAC T GAGTCAGCCC GCCCAGCCCT ACTGCAG 1723
Ala Cys Gly Cys His
400

(2)配列番号: 11の情報は:
(i)配列の特色:
(A)長さ: 402アミノ酸
(B)型: アミノ酸
(D)トポロジー: 直鎖状

(ii)配列の種類: タンパク質

(xi)配列: 配列番号: 11:
Met Thr Ala Leu Pro Gly Pro Leu Trp Leu Leu Gly Leu Ala Leu Cys
1 5 10 15
Ala Leu Gly Gly Gly Gly Pro Gly Leu Arg Pro Pro Gly Cys Pro
20 25 30
Glu Arg Arg Leu Gly Ala Arg Glu Arg Asp Val Gln Arg Glu Ile
35 40 45
Leu Ala Val Leu Gly Leu Pro Gly Arg Pro Arg Pro Arg Ala Pro Pro
50 55 60
Ala Ala Ser Arg Leu Pro Ala Ser Ala Pro Leu Phe Met Leu Asp Leu
65 70 75 80
Tyr His Ala Met Ala Gly Asp Asp Asp Glu Asp Gly Ala Pro Ala Glu
85 90 95
Arg Arg Leu Gly Arg Ala Asp Leu Val Met Ser Phe Val Asn Met Val
100 105 110
Glu Arg Asp Arg Ala Leu Gly His Gln Glu Pro His Trp Lys Glu Phe
115 120 125
Arg Phe Asp Leu Thr Gln Ile Pro Ala Gly Glu Ala Val Thr Ala Ala
130 135 140
Glu Phe Arg Ile Tyr Lys Val Pro Ser Ile His Leu Leu Asn Arg Thr
145 150 155 160
Leu His Val Ser Met Phe Gln Val Val Gln Glu Gln Ser Asn Arg Glu
165 170 175
Ser Asp Leu Phe Phe Leu Asp Leu Gln Thr Leu Arg Ala Gly Asp Glu
180 185 190

Gly Trp Leu Val Leu Asp Val Thr Ala Ala Ser Asp Cys Trp Leu Leu 195
Lys Arg His Lys Asp Leu Gly Leu Arg Leu Tyr Val Glu Thr Glu Asp 210
Gly His Ser Val Asp Pro Gly Leu Ala Gly Leu Leu Gly Gln Arg Ala 225
Pro Arg Ser Gln Gln Pro Phe Val Val Thr Phe Phe Arg Ala Ser Pro 245
Ser Pro Ile Arg Thr Pro Arg Ala Val Arg Pro Leu Arg Arg Arg Gln 260
Pro Lys Lys Ser Asn Glu Leu Pro Gln Ala Asn Arg Leu Pro Gly Ile 275
Phe Asp Asp Val His Gly Ser His Gly Arg Gln Val Cys Arg Arg His 290
Glu Leu Tyr Val Ser Phe Gln Asp Leu Gly Trp Leu Asp Trp Val Ile 305
Ala Pro Gln Gly Tyr Ser Ala Tyr Tyr Cys Glu Gly Glu Cys Ser Phe 325
Pro Leu Asp Ser Cys Met Asn Ala Thr Asn His Ala Ile Leu Gln Ser 340
Leu Val His Leu Met Lys Pro Asn Ala Val Pro Lys Ala Cys Cys Ala 355
Pro Thr Lys Leu Ser Ala Thr Ser Val Leu Tyr Tyr Asp Ser Ser Asn 370
Asn Val Ile Leu Arg Lys Ala Arg Asn Met Val Val Lys Ala Cys Gly 385
Cys His 400

(ix)配列の特徴
(A)特徴を表す記号: CDS
(B)位置: 93..1289
(D)他の情報: /機能 = 「骨形成タンパク質」
/産物 = 「nOP2-PP」
/注記 = 「nOP2 <cDNA>」

(xi)配列: 配列番号: 12:
GCCAGGCACA GGTGGCGCGT CTGGTCTCC CCTCTGGCG TCAGCCGAGC CCGACCACT 60
ACCACTGAT GCGCGCGGC TGAAGTCCG AG ATG GCT ATG GGT CCC GGG CCA 113
Met Ala Met Arg Pro Gly Pro
1 5
CTC TGG CTA TTG GGC CTT GCT CTG TGC GGC CTG CCA GGC GGC CAC GGT 161
Leu Trp Leu Leu Gly Leu Ala Leu Cys Ala Leu Gly Gly Gly His Gly
10 15 20
CCG GGT CCC CGC CAC ACC TGT CCC CAG GGT GGC CTG CCA GCG GCG GAG 209
Pro Arg Pro Pro His Thr Cys Pro Gln Arg Arg Leu Gly Ala Arg Glu
25 30 35
CGC CGC GAC ATG CAG CGT GAA ATC CTG GCG GTG CTC GGG CTA CCG GGA 257
Arg Arg Asp Met Gln Arg Glu Ile Leu Ala Val Leu Gly Leu Pro Gly
40 45 50 55
CGG CCC CGA CCC CGT GCA CAA CCC GCC GGT GCC CGG CAG CCA GCG TCC 305
Arg Pro Arg Pro Arg Ala Gln Pro Ala Ala Arg Gln Pro Ala Ser
60 65 70
GCG CCC CTC TTC ATG TTG GAC CTA TAC CAC GCC ATG ACC GAT GAC GAC 353
Ala Pro Leu Phe Met Leu Asp Leu Tyr His Ala Met Thr Asp Asp
75 80 85
GAC GGC GGC CCA CCA CAG GCT CAC TTA GGC GGT GCC GAC CTG GTC ATG 401
Asp Gly Gly Pro Pro Gln Ala His Leu Gly Arg Ala Asp Leu Val Met
90 95 100
AGC TTC GTC AAC ATG GTG GAA CGC CAC GGT ACC CTG GGC TAC CAG GAG 449
Ser Phe Val Asn Met Val Glu Arg Asp Arg Thr Leu Gly Tyr Gln Glu
105 110 115
CCA CAC TGG AAG GAA TTC CAC TTT GAC CTA ACC CAG ATC CCT GCT GGG 497
Pro His Trp Lys Glu Phe His Phe Asp Leu Thr Gln Ile Pro Ala Gly
120 125 130 135
GAG GCT GTC ACA GCT GCT GAG TTC CGG ATC TAC AAA GAA CCC AGC ACC 545
Glu Ala Val Thr Ala Ala Glu Phe Arg Ile Tyr Lys Glu Pro Ser Thr
140 145 150

(2)配列番号: 12の情報は:

- (i)配列の特色:
(A)長さ: 1926塩基対
(B)型: 核酸
(C)鎖の数: 一本鎖
(D)トポロジー: 直鎖状

(vi)起源:
(A)生物名: ネズミ科
(F)組織の種類: 胚

特表平7-504680 (18)

CAC CGG CTC AAC ACA ACC CTC GAC ATC AGC ATG TTC GAA GTG GTC CAA His Pro Leu Asn Thr Thr Leu His Ile Ser Met Phe Glu Val Val Gln 155 160 165	593	CCC AAG GCA TGC TGT GCA CCC ACC AAA CTG AGT GCC ACC TCT GTG CTG Pro Lys Ala Cys Cys Ala Pro Thr Lys Leu Ser Ala Thr Ser Val Leu 360 365 370 375	1217
GAG CAC TCC AAC AGG GAG TCT GAC TTG TTC TTT TTG GAT CTT CAG ACC Glu His Ser Asn Arg Glu Ser Asp Leu Phe Phe Leu Asp Leu Gln Thr 170 175 180	641	TAC TAT GAC AGC AGC AAC AAT GTC ATC CTG GGT AAA CAC CGT AAC ATG Tyr Tyr Asp Ser Ser Asn Asn Val Ile Leu Arg Lys His Arg Asn Het 380 385 390	1265
CTC CGA TCT GGG GAC GAG GGC TGG CTG GTG CTG GAC ATC ACA GCA GCC Leu Arg Ser Gly Asp Glu Gly Trp Leu Val Leu Asp Ile Thr Ala Ala 185 190 195	689	GTG GTC AAG GCC TGT GGC TGC CAC TGAGGCCCG CCCAGCATCC TCGTCTACT Val Val Lys Ala Cys Gly Cys His 395	1319
AGT CAC CCA TGG CTG CTG AAC CAT CAC AAG CAC CTG GGA CTC GGC CTC Ser Asp Arg Trp Leu Leu Asn His His Lys Asp Leu Gly Leu Arg Leu 200 205 210 215	737	ACCTTACCAT CTGGCGGGC CCGTCTCCAG AGGCAGAAAC CCTTGTATGT TATCATAGCT CAGACAGGGG CAATGGGAGG CCCTTCACCT CCCCTGGCCA CTCTCTGCTA AAATCTGGT CTTTCCCACT TCCTCTGTCC TTCATGGGGT TTGGGGGCTA TCACCCGGCC CTCTCCATCC TCTTACCCCA AGCATAGACT GAATGCACAC AGCATCCAG AGCTATCCTA ACTGAGAGGT CTGGGGTCAG CACTGAAGGC CCACATGAGG AAGACTGATC CTGGCCATC CTCAGCCAC AATGGCAAT TCTGGATGGT CTAAGAAGGC CCGTGAATTC TAAACTAGAT GATCTGGGCT CTCTGCACCA TTCATTGTGG CAGTTGGGAC ATTITTAGGT ATAACAGACA CATACACTTA GATCAATCCA TCGCTGTAGT CCTTGAAATC AGAGCTAGCT TGTTAGAAAA AGAATCAGAG CCAGGTATAG CGGTGCATGT CATTAAATCC AGCGCTAAG AGACAGAGAC AGGAGAACTT CTGTGAGTTC AAGGCCACAT AGAAACAGCC TGTCTGGGA GCAGGAAAAA AAAAAAAAC GGAATTC	1379 1439 1499 1559 1619 1679 1739 1799 1859 1919 1926
TAT GTG GAA ACC GCG GAT GGG CAC AGC ATG GAT CCT GGC CTG GCT GGT Tyr Val Glu Thr Ala Asp Gly His Ser Met Asp Pro Gly Leu Ala Gly 220 225 230	785	(2)配列番号: 13の情報: (i)配列の特色: (A)長さ: 399アミノ酸 (B)型: アミノ酸 (D)トポロジー: 直鎖状	
CTG CTT GGA CGA CAA GCA CCA GCG TCC AGA CAG CCT TTC ATG GTA ACC Leu Leu Gly Arg Gln Ala Pro Arg Ser Arg Gln Pro Phe Met Val Thr 235 240 245	833	(ii)配列の種類: タンパク質	
TTC TTC AGG GCC AGC CAG AGT CCT GTG GCG GCC CCT GCG GCA GCG AGA Phe Phe Arg Ala Ser Gln Ser Pro Val Arg Ala Pro Arg Ala Ala Arg 250 255 260	881	(xi)配列: 配列番号: 13: Het Ala Het Arg Pro Gly Pro Leu Trp Leu Leu Gly Leu Ala Leu Cys 1 5 10 15	
CCA CTG AAG AGG AGG CAG CCA AAG AAA ACG AAC GAG CTT CCG CAC CCC Pro Leu Lys Arg Arg Gln Pro Lys Lys Thr Asn Glu Leu Pro His Pro 265 270 275	929	Ala Leu Gly Gly Gly His Gly Pro Arg Pro Pro His Thr Cys Pro Gln 20 25 30	
AAC AAA CTC CCA GGG ATC TTT GAT GAT GGC CAC GGT TCC GGC GGC AGA Asn Lys Leu Pro Gly Ile Phe Asp Asp Gly His Gly Ser Arg Gly Arg 280 285 290 295	977		
GAG GTT TGC GCG AGG CAT GAG CTC TAC GTC AGC TTC CGT CAC CTT GGC Glu Val Cys Arg Arg His Glu Leu Tyr Val Ser Phe Arg Asp Leu Gly 300 305 310	1025		
TGG CTG GAG TGG GTC ATC GCG CCC CAG GGC TAC TCT GGC TAT TAC TGT Trp Leu Asp Trp Val Ile Ala Pro Gln Gly Tyr Ser Ala Tyr Tyr Cys 315 320 325	1073		
GAG GGG GAG TGT GCT TTC CCA CTG GAC TCC TGT ATG AAC GCC ACC AAC Glu Gly Cys Glu Ala Phe Pro Leu Asp Ser Cys Met Asn Ala Thr Asn 330 335 340	1121		
CAT GCC ATC TTG CAG TCT CTG GTG CAC CTG ATG AAG CCA GAT GTT GTC His Ala Ile Leu Gln Ser Leu Val His Leu Het Lys Pro Asp Val Val 345 350 355	1169		
Arg Arg Leu Gly Ala Arg Glu Arg Asp Met Gln Arg Glu Ile Leu 35 40 45		Gly Tyr Ser Ala Tyr Tyr Cys Glu Gly Glu Cys Ala Phe Pro Leu Asp 325 330 335	
Ala Val Leu Gly Leu Pro Gly Arg Pro Arg Pro Arg Ala Gln Pro Ala 50 55 60		Ser Cys Met Asn Ala Thr Asn His Ala Ile Leu Gln Ser Leu Val His 340 345 350	
Ala Ala Arg Gln Pro Ala Ser Ala Pro Leu Phe Het Leu Asp Leu Tyr 65 70 75 80		Leu Het Lys Pro Asp Val Val Pro Lys Ala Cys Cys Ala Pro Thr Lys 355 360 365	
His Ala Met Thr Asp Asp Asp Asp Gly Gly Pro Pro Gln Ala His Leu 85 90 95		Leu Ser Ala Thr Ser Val Leu Tyr Tyr Asp Ser Ser Asn Asn Val Ile 370 375 380	
Gly Arg Ala Asp Leu Val Het Ser Phe Val Asn Met Val Glu Arg Asp 100 105 110		Leu Arg Lys His Arg Asn Het Val Val Lys Ala Cys Gly Cys His 385 390 395	
Arg Thr Leu Gly Tyr Gln Glu Pro His Trp Lys Glu Phe His Phe Asp 115 120 125		(2)配列番号: 14の情報: (i)配列の特色: (A)長さ: 1260塩基対 (B)型: 核酸 (C)鎖の数: 一本鎖 (D)トポロジー: 直鎖状	
Leu Thr Gln Ile Pro Ala Gly Glu Ala Val Thr Ala Ala Glu Phe Arg 130 135 140		(ii)配列の種類: cDNA	
Ile Tyr Lys Glu Pro Ser Thr His Pro Leu Asn Thr Thr Leu His Ile 145 150 155 160		(iii)ハイボセチカル配列: NO	
Ser Met Phe Glu Val Val Gln Glu His Ser Asn Arg Glu Ser Asp Leu 165 170 175		(iv)アンチセンス: NO	
Phe Phe Leu Asp Leu Gln Thr Leu Arg Ser Gly Asp Glu Gly Trp Leu 180 185 190		(vi)起源: (A)生物名: ヒト	
Val Leu Asp Ile Thr Ala Ala Ser Asp Arg Trp Leu Leu Asn His His 195 200 205		(ix)配列の特徴 (A)特徴を表す記号: CDS (B)位置: 9..1196 (D)他の情報: /機能=「骨形成タンパク質」- /産物=「BMP2A」 /注記=「BMP2A (cDNA)」	
Lys Asp Leu Gly Leu Arg Leu Tyr Val Glu Thr Ala Asp Gly His Ser 210 215 220		(xi)配列: 配列番号: 14: GGTCGACC ATG GTG GCC GGG ACC GCG TGT CTT CTA GCG TTG CTG CTT CCC Het Val Ala Gly Thr Arg Cys Leu Leu Ala Leu Leu Leu Pro 1 5 10	50
Met Asp Pro Gly Leu Ala Gly Leu Leu Gly Arg Gln Ala Pro Arg Ser 225 230 235 240		CAG GTC CTC CTG GGC GGC GGC GGT GGC CTC GTT CCG GAG CTG GGC GGC Gln Val Leu Leu Gly Gly Ala Ala Gly Leu Val Pro Glu Leu Gly Arg 15 20 25 30	98
Arg Gln Pro Phe Met Val Thr Phe Phe Arg Ala Ser Gln Ser Pro Val 245 250 255			
Arg Ala Pro Arg Ala Ala Arg Pro Leu Lys Arg Arg Gln Pro Lys Lys 260 265 270			
Thr Asn Glu Leu Pro His Pro Asn Lys Leu Pro Gly Ile Phe Asp Asp 275 280 285			
Gly His Gly Ser Arg Gly Arg Glu Val Cys Arg Arg His Glu Leu Tyr 290 295 300			
Val Ser Phe Arg Asp Leu Gly Trp Leu Asp Trp Val Ile Ala Pro Gln 305 310 315 320			

特表平7-504680 (19)

AGG AAG TTC GCG GCG GCG TCG TCG GCG GCG TCA TCC CAG GCG TCT Arg Lys Phe Ala Ala Ser Ser Gly Arg Pro Ser Ser Gln Pro Ser 35 40 45	146	GTC TCC AAG AGA CAT GTT AGG ATA AGC AGG TCT TTG CAC CAA GAT GAA Val Ser Lys Arg His Val Arg Ile Ser Arg Ser Leu His Gln Asp Glu 240 245 250	770
GAC GAG GTC CTG AGC GAG TTC GAG TTG TCG GCG CTG CTC AGC ATG TTC GCG Asp Glu Val Leu Ser Glu Phe Glu Leu Arg Leu Leu Ser Met Phe Gly 50 55 60	194	CAC AGC TGG TCA CAG ATA AGG CCA TTG CTA GTA ACT TTT GGC CAT GAT His Ser Trp Ser Gln Ile Arg Pro Leu Leu Val Thr Phe Gly His Asp 255 260 265 270	818
CTG AAA CAG AGA CCC ACC CCC AGC AGG GAC GCG GTG GTG CCC CCC TAC Leu Lys Gln Arg Pro Thr Pro Ser Arg Asp Ala Val Val Pro Pro Tyr 65 70 75	242	GGA AAA GGG CAT CCT CTC CAC AAA AGA GAA AAA CGT CAA GCC AAA CAC Gly Lys Gly His Pro Leu His Lys Arg Glu Lys Arg Gln Ala Lys His 275 280 285	866
ATG CTA GAC CTG TAT CCG AGC CAC TCG GGT CAG CCG GCG TCA CCG GCG Met Leu Asp Leu Tyr Arg Arg His Ser Gly Gln Pro Gly Ser Pro Ala 80 85 90	290	AAA CAG CCG AAA GCG GTT AAG TCC AGC TCT AAG AGA CAC CGT TTG TAC Lys Gln Arg Lys Arg Leu Lys Ser Ser Cys Lys Arg His Pro Leu Tyr 290 295 300	914
CCA GAC CAC CCG TTG GAG AGG GCA GCG AGC CGA GCG AAC ACT GTG GCG Pro Asp His Arg Leu Glu Arg Ala Ala Ser Arg Ala Asn Thr Val Arg 95 100 105 110	338	GTG GAC TTC AGT GAC CTG GGG TGG AAT GAC TGG ATT GTG GCT CCC CCG Val Asp Phe Ser Asp Val Gly Trp Asn Asp Trp Ile Val Ala Pro Pro 305 310 315	962
AGC TTC CAC CAT GAA GAA TCT TTG GAA GAA CTA CCA GAA ACG ACT GCG Ser Phe His His Glu Glu Ser Leu Glu Glu Leu Pro Glu Thr Ser Gly 115 120 125	386	GGG TAT CAC GCG TTT TAC TCC CAC GGA GAA TGC CCT TTT GCT CTC GCT Gly Tyr His Ala Phe Tyr Cys His Gly Glu Cys Pro Phe Pro Leu Ala 320 325 330	1010
AAA ACA ACC CCG AGA TTC TTC TTT AAT TTA AGT TCT ATC CCC ACG GAG Lys Thr Thr Arg Arg Phe Phe Phe Asn Leu Ser Ser Ile Pro Thr Glu 130 135 140	434	GAT CAT CTG AAC TCC ACT AAT CAT GCC ATT GTT CAG ACG TTG GTC AAC Asp His Leu Asn Ser Thr Asn His Ala Ile Val Gln Thr Leu Val Asn 335 340 345 350	1058
GAG TTT ATC ACC TCA GCA GAG CTT CAG GTT TTC CGA GAA CAG ATG CAA Glu Phe Ile Thr Ser Ala Glu Leu Gln Val Phe Arg Glu Gln Met Gln 145 150 155	482	TCT GTT AAC TCT AAG ATT CCT AAG GCA TGC TGT CTC CCG ACA GAA CTC Ser Val Asn Ser Lys Ile Pro Lys Ala Cys Cys Val Pro Thr Thr Glu Leu 355 360 365	1106
GAT GCT TTA CGA AAC AAT AGC AGT TTC CAT CAC CGA ATT AAT TAT TAT Asp Ala Leu Gly Asn Asn Ser Ser Phe His His Arg Ile Asn Ile Tyr 160 165 170	530	AGT GCT ATC TCG ATG CTG TAC CTT GAC GAG AAT GAA AAG GTT CTA TTA Ser Ala Ile Ser Met Leu Tyr Leu Asp Glu Asn Glu Lys Val Val Leu 370 375 380	1154
GAA ATC ATA AAA CCT GCA ACA GCC AAC TCG AAA-TTC CCC GTG ACC AGT Glu Ile Ile Lys Pro Ala Thr Ala Asn Ser Lys Phe Pro Val Thr Ser 175 180 185 190	578	AAG AAC TAT CAG GAT ATG GTT GTG GAG GGT TGT GCG TGT GCG Lys Asn Tyr Gln Asp Met Val Val Glu Gly Cys Gly Cys Arg 385 390 395	1196
CTT TTG GAC ACC AGG TTG GTG AAT CAG AAT GCA AGC AGG TCG GAA ACT Leu Leu Asp Thr Arg Leu Val Asn Gln Ala Ser Arg Trp Glu Ser 195 200 205	626	TACTACGAGCA AATTAATA CATAAATATA TATATATATA TATATTITAG AAAAAAGAAA AAAA	1256 1260
TTT GAT CTC ACC CCC GCT GTG ATG CCG TCG ACT CAC GCA GGA CAC GCC Phe Asp Val Thr Pro Ala Val Met Arg Trp Thr Ala Gln Gly His Ala 210 215 220	674	(2)配列番号: 15の情報は: (i)配列の特色: (A)長さ: 398アミノ酸 (B)型: アミノ酸 (C)鎖の数: 直鎖状	722
AAC CAT GGA TTC GTG GTG GAA GTG GCG CAC TTG GAG GAG AAA CAA GGT Asn His Gly Phe Val Val Glu Val Ala His Leu Glu Glu Lys Gln Gly 225 230 235			

(ii)配列の種類: タンパク質

(xi)配列: 配列番号: 15:

Met Val Ala Gly Thr Arg Cys Leu Leu Ala Leu Leu Leu Pro Gln Val 1 5 10 15	
Leu Leu Gly Gly Ala Ala Gly Leu Val Pro Glu Leu Gly Arg Arg Lys 20 25 30	
Phe Ala Ala Ala Ser Ser Gly Arg Pro Ser Ser Gln Pro Ser Asp Glu 35 40 45	
Val Leu Ser Glu Phe Glu Leu Arg Leu Leu Ser Met Phe Gly Leu Lys 50 55 60	
Gln Arg Pro Thr Pro Ser Arg Asp Ala Val Val Pro Pro Tyr Met Leu 65 70 75 80	
Asp Leu Tyr Arg Arg His Ser Gly Gln Pro Gly Ser Pro Ala Pro Asp 85 90 95	
His Arg Leu Glu Arg Ala Ala Ser Arg Ala Asn Thr Val Arg Ser Phe 100 105 110	
His His Glu Glu Ser Leu Glu Glu Leu Pro Glu Thr Ser Gly Lys Thr 115 120 125	
Thr Arg Arg Phe Phe Phe Asn Leu Ser Ser Ile Pro Thr Glu Glu Phe 130 135 140	
Ile Thr Ser Ala Glu Leu Gln Val Phe Arg Glu Gln Met Gln Asp Ala 145 150 155 160	
Leu Gly Asn Asn Ser Ser Phe His His Arg Ile Asn Ile Tyr Glu Ile 165 170 175	
Ile Lys Pro Ala Thr Ala Asn Ser Lys Phe Pro Val Thr Ser Leu Leu 180 185 190	
Asp Thr Arg Leu Val Asn Gln Asn Ala Ser Arg Trp Glu Ser Phe Asp 195 200 205	
Val Thr Pro Ala Val Met Arg Trp Thr Ala Gln Gly His Ala Asn His 210 215 220	
Gly Phe Val Val Glu Val Ala His Leu Glu Glu Lys Gln Gly Val Ser 225 230 235 240	
Lys Arg His Val Arg Ile Ser Arg Ser Leu His Gln Asp Glu His Ser 245 250 255	

Trp Ser Gln Ile Arg Pro Leu Leu Val Thr Phe Gly His Asp Gly Lys 260 265 270	
Gly His Pro Leu His Lys Arg Glu Lys Arg Gln Ala Lys His Lys Gln 275 280 285	
Arg Lys Arg Leu Lys Ser Ser Cys Lys Arg His Pro Leu Tyr Val Asp 290 295 300	
Phe Ser Asp Val Gly Trp Asn Asp Trp Ile Val Ala Pro Pro Gly Tyr 305 310 315 320	
His Ala Phe Tyr Cys His Gly Glu Cys Pro Phe Pro Leu Ala Asp His 325 330 335	
Leu Asn Ser Thr Asn His Ala Ile Val Gln Thr Leu Val Asn Ser Val 340 345 350	
Asn Ser Lys Ile Pro Lys Ala Cys Cys Val Pro Thr Glu Leu Ser Ala 355 360 365	
Ile Ser Met Leu Tyr Leu Asp Glu Asn Glu Lys Val Val Leu Lys Asn 370 375 380	
Tyr Gln Asp Met Val Val Glu Gly Cys Gly Cys Arg 385 390 395	

(2)配列番号: 16の情報は:

(i)配列の特色:
(A)長さ: 574塩基対
(B)型: 核酸
(C)鎖の数: 一本鎖
(D)トポロジー: 直鎖状

(ii)配列の種類: genomic DNA

(vi)起源:
(A)生物名: ヒト

(ix)配列の特徴

(A)特徴を表す記号: CDS
(B)位置: 1..327
(C)他の情報: /産物=「成熟hBMP3 (部分)」
/注記=「成熟ヒトBMP3タンパク質のこの部分配列は保存的な7個のシステイン骨格の最初の3個のシステインを含む。102個のC末端配列 (CBMP3) に関して米国特許第5,011,691号を参照のこと」

(ix)配列の特徴
(A)特徴を表す記号: intron
(B)位置: 328..574

(xi)配列：配列番号：16：
CGA GCT TCT AAA ATA GAA TAC CAC TAT AAA AAG GAT CAG GTG TGC GAG 48
Arg Ala Ser Lys Ile Glu Tyr Gln Tyr Lys Lys Asp Glu Val Trp Glu 15
1 5 10 15
CAG AGA AAG CCT TAC AAG ACC CTT CAG GGC TCA GGC CCT GAA AAG AGT 96
Glu Arg Lys Pro Tyr Lys Thr Leu Gln Gly Ser Gly Pro Glu Lys Ser 30
20 25 30
AAG AAT AAA AAC AAA CAG AGA AAG GGC CCT CAT CGC AAG AGC CAG ACC 144
Lys Asn Lys Lys Lys Gln Arg Lys Gly Pro His Arg Lys Ser Gln Thr 45
35 40 45
CTC CAA TTT GAT GAG CAG ACC CTG AAA AAG GCA AGG AGA AAG CAG TGG 192
Leu Gln Phe Asp Glu Gln Thr Leu Lys Lys Ala Arg Arg Lys Gln Trp 60
50 55 60
ATT GAA CCT CGG AAT TGC GCC AGG AGA TAC CTC AAG GTA GAC TTT GCA 240
Ile Glu Pro Arg Asn Cys Ala Arg Arg Tyr Leu Lys Val Asp Phe Ala 80
65 70 75
GAT ATT GGC TGG AGT GAA TGG ATT ATC TCC GCC AAG TCC TTT GAT GCC 288
Asp Ile Gly Trp Ser Glu Trp Ile Ile Ser Pro Lys Ser Phe Asp Ala 95
85 90 95
TAT TAT TGC TCT GGA GCA TGC CAG TTC CCC ATG CCA AAG GTAGCCATTG 337
Tyr Tyr Cys Ser Gly Ala Cys Gln Phe Pro Met Pro Lys 105
100
TTCTCTGTCG TGTACTTACT TCTATTTCG ATTAGTAGAA AGACACATTG ACTAAGTTAG 397
TGTCGATATA GGGGTTTGT GTAAGTGTT GTGTTTCCAT TTGCAAAATC CATGGGAGCC 457
CITATTACT ACATTTAA CCATAATAGG TAATATGGTT ATTCTTGTT TCTGTITAA 517
GGTGTITAA GTCATATGAA GTAGATTG GTATAAGAA GCATATGAGA AAAAAA 574
(2)配列番号：17の情報：
(i)配列の特色：
(A)長さ：108アミノ酸
(B)型：アミノ酸
(D)トポロジー：直鎖状
(ii)配列の種類：タンパク質
(xi)配列：配列番号：17：
Arg Ala Ser Lys Ile Glu Tyr Gln Tyr Lys Lys Asp Glu Val Trp Glu 15
1 5 10 15

Glu Arg Lys Pro Tyr Lys Thr Leu Gln Gly Ser Gly Pro Glu Lys Ser 30
20 25 30
Lys Asn Lys Lys Lys Gln Arg Lys Gly Pro His Arg Lys Ser Gln Thr 45
35 40 45
Leu Gln Phe Asp Glu Gln Thr Leu Lys Lys Ala Arg Arg Lys Gln Trp 60
50 55 60
Ile Glu Pro Arg Asn Cys Ala Arg Arg Tyr Leu Lys Val Asp Phe Ala 80
65 70 75
Asp Ile Gly Trp Ser Glu Trp Ile Ile Ser Pro Lys Ser Phe Asp Ala 95
85 90 95
Tyr Tyr Cys Ser Gly Ala Cys Gln Phe Pro Met Pro Lys 105
100
(2)配列番号：18の情報：
(i)配列の特色：
(A)長さ：1788塩基対
(B)型：核酸
(C)鎖の数：一本鎖
(D)トポロジー：直鎖状
(ii)配列の種類：cDNA
(iii)ハイボセティカル配列：N0
(iv)アンチセンス：N0
(vi)起源：
(A)生物名：ヒト
(F)組織の種類：海馬
(ix)配列の特徴
(A)特徴を表す記号：CDS
(B)位置：403..1626
(C)配列を決定した方法：E (実験による)
(D)他の情報：機能=「骨形成タンパク質」
／産物=「BMP2B」
／証拠=実験による
／注記=「BMP2P (CDNA)」
(xi)配列：配列番号：18：
GAATTCGGGG CAGAGGAGGA GGGAGGGAGG GAAGGAGCGG GGAGCCCGGC CCGGAAGCTA 60
GGTGAGTGTG GCATCCGAGC TGAGGGAGCG GACCCTCAGA CGCCCGTGGT CCTCGGCTG 120
AGTATCTAGC TTGTCTCCCC GATGGGATTC CGTCCCAACC TATCTCCAGC CTGCAGCGCC 180

ACAGTCCGCC CCGTCCGCC AGCTTCACTC CAACCGTICA GAGGTCCCCA GGAGTCTCTG 240
CTGGGAGGCC CCTACTCCA GGCACCTATG GAGCCATTCC GTAGTCCCAT CCGGACCAAC 300
GCATCTCTGC AGCTTCCCTC AGCTTTTCCA GCAAGTTTGT TCAACATTGG CTGTCAAGAA 360
TCATGGACTG TTATTATATG CTTGTCTTTC TGTCAGAGCA CC ATG ATT CTT GGT 414
Met Ile Pro Gly 1
AAC CGA ATG CTC ATG GTC GTT TTA TTA TGC CAA CTC GTC CTA GGA GGC 462
Asn Arg Met Leu Met Val Val Leu Leu Cys Gln Val Leu Leu Gly Gly 20
5 10 15 20
GGC AGC CAT GCT AGT TTG ATA CCT CAG ACG GGC AAC AAA AAA GTC GCC 510
Ala Ser His Ala Ser Leu Ile Pro Glu Thr Gly Lys Lys Lys Val Ala 35
25 30 35
GAG ATT CAG GGC CAC GGC GGA GGA GGC CCC TCA GGC CAG AGC CAT GAG 558
Glu Ile Gln Gly His Ala Gly Gly Arg Arg Ser Gly Gln Ser His Glu 50
40 45 50
CTC CTG CCG CAC TTC GAG GGC ACA CTT CTG CAG ATG TTT GGG CTG CGC 606
Leu Leu Arg Asp Phe Glu Ala Thr Leu Leu Gln Met Phe Gly Leu Arg 65
55 60 65
CGC CGC CCG CAG CCT AGC AAG AGT GGC GTC ATT CCG CAC TAC ATG CGG 654
Arg Arg Pro Gln Pro Ser Lys Ser Ala Val Ile Pro Asp Tyr Met Arg 80
70 75 80
GAT CTT TAC CGG CTT CAG TCT GGC CAG CAG GAG GAA CAG CAG ATC CAC 702
Asp Leu Tyr Arg Leu Gln Ser Gly Glu Glu Glu Glu Gln Ile His 100
85 90 95 100
AGC ACT GGT CTT CAC TAT CCT GAG CGC CCG GCC AGC CGC GCC AAC ACC 750
Ser Thr Gly Leu Glu Tyr Pro Glu Arg Pro Ala Ser Arg Ala Asn Thr 115
105 110 115
GTG AGG AGC TTC CAC CAC GAA GAA CAT CTG GAG AAC ATC CCA GGC ACC 798
Val Arg Ser Phe His His Glu Glu His Leu Glu Asn Ile Pro Gly Thr 130
120 125 130
AGT GAA AAC TCT GCT TTT CGT TTC CTC TTT AAC CTC AGC AGC ATC CCT 846
Ser Glu Asn Ser Ala Phe Arg Phe Leu Phe Asn Leu Ser Ser Ile Pro 145
135 140 145
CAG AAC CAG GTG ATC TCC TCT GCA GAC CTT CGG CTC TTC CGG GAG CAC 894
Glu Asn Glu Val Ile Ser Ser Ala Glu Leu Arg Leu Phe Arg Glu Gln 160
150 155 160

GTG GAC CAG GGC CCT GAT TGG GAA AGC GGC TTC CAC COT ATA AAC ATT 942
Val Asp Gln Gly Pro Asp Trp Glu Arg Gly Phe His Arg Ile Asn Ile 180
165 170 175
TAT GAG GTT ATG AAC CCC CCA GCA GAA GTG GTG CTT GGG CAC CTC ATC 990
Tyr Glu Val Met Lys Pro Pro Ala Glu Val Val Pro Gly His Leu Ile 195
185 190 195
ACA CGA CTA CTG GAC ACC AGA CTG GTC CAC CAC AAT GTG ACA CGG TGG 1038
Thr Arg Leu Leu Asp Thr Arg Leu Val His His Asn Val Thr Arg Trp 210
200 205 210
GAA ACT TTT GAT GTG ACC CCT GGC GTC CTT CGC TGG ACC CGG CAG AAG 1086
Glu Thr Phe Asp Val Ser Pro Ala Val Leu Arg Trp Thr Arg Glu Lys 225
215 220 225
CAG CCA AAC TAT GGG CTA GCC ATT CAC GTG ACT CAC CTC CAT CAG ACT 1134
Gln Pro Asn Tyr Gly Leu Ala Ile Glu Val Thr His Leu His Gln Thr 240
230 235 240
CGG ACC CAC CAG GGC CAG CAT GTC AGC ATT AGC CGA TCG TTA CCT CAA 1182
Arg Thr His Gln Gly Gln His Val Arg Ile Ser Arg Ser Leu Pro Gln 260
245 250 255
GGG AGT GGG AAT TGG GCC CAG CTC CGG CCC CTC CTG GTC ACC TTT GGC 1230
Gly Ser Gly Asn Trp Ala Gln Leu Arg Pro Leu Leu Val Thr Phe Gly 275
265 270 275
CAT GAT GGC CGG GGC CAT GCC TTG ACC CGA CGC CGG AGG GCC AAG CTT 1278
His Asp Gly Arg Gly His Ala Leu Thr Arg Arg Arg Arg Ala Lys Arg 290
280 285 290
AGE CCT AAG CAT CAC TCA CAG CGG GCC AGG AAG AAG AAT AAG AAC TGC 1326
Ser Pro Lys His His Ser Gln Arg Ala Arg Lys Lys Asn Lys Asn Cys 305
295 300 305
CGG CGC CAC TCG CTC TAT GTG GAC TTC AGC GAT GTG GGC TGG AAT GAC 1374
Arg Arg His Ser Leu Tyr Val Asp Phe Ser Asp Val Gly Trp Asn Asp 320
310 315 320
TGG ATT GTG GCC CCA CCA GGC TAC CAG GCC TTC TAC TGC CAT GGC GAC 1422
Trp Ile Val Ala Pro Pro Gly Tyr Gln Ala Phe Tyr Cys His Gly Asp 340
325 330 335
TGC CCC TTT CCA CTG GCT GAC CAC CTC AAC TCA ACC AAC CAT GCC ATT 1470
Cys Pro Phe Pro Leu Ala Asp His Leu Asn Ser Thr Asn His Ala Ile 355
345 350 355
GTG CAG ACC CTG GTC AAT TCT GTC AAT TCC AGT ATC CCC AAA GCC TGT 1518
Val Gln Thr Leu Val Asn Ser Val Asn Ser Ser Ile Pro Lys Ala Cys 370
360 365 370

TGT GTG CCG ACT GAA CTG AGT GCC ATC TCC ATG CTG TAC CTG GAT GAG 1566
Cys Val Pro Thr Glu Leu Ser Ala Ile Ser Met Leu Tyr Leu Asp Glu 375 380 385

TAT GAT AAG GTG GTA CTG AAA AAT TAT CAG CAG ATG GTA GAG GGA 1614
Tyr Asp Lys Val Val Leu Lys Asn Tyr Gln Glu Met Val Val Glu Gly 390 395 400

TGT GGG TGC CGC TGAGATCAGG CAGTCTTGA GGATAGACAG ATATACACAC 1666
Cys Gly Cys Arg 405

ACACACACAC ACACCACATA CACCACACAC ACACGTTCCC ATCCACTCAC CCACACACTA 1726
CACACACTGC TTCTTATATAG CTGCACITTT ATTTAAAAAA AAAAAAATAA AAACCCGAAT 1786
TC 1788

(2)配列番号: 19の情報は:

- (i)配列の特色:
(A)長さ: 408アミノ酸
(B)型: アミノ酸
(C)鎖の数: 一本鎖
(D)トポロジー: 直鎖状

(ii)配列の種類: タンパク質

(xi)配列: 配列番号: 19:

Met Ile Pro Gly Asn Arg Met Leu Met Val Val Leu Leu Cys Gln Val 1 5 10 15
Leu Leu Gly Gly Ala Ser His Ala Ser Leu Ile Pro Glu Thr Gly Lys 20 25 30 35
Lys Lys Val Ala Glu Ile Gln Gly His Ala Gly Gly Arg Arg Ser Gly 40 45 50 55
Gln Ser His Glu Leu Leu Arg Asp Phe Glu Ala Thr Leu Leu Gln Met 60 65 70 75 80
Phe Gly Leu Arg Arg Arg Pro Gln Pro Ser Lys Ser Ala Val Ile Pro 85 90 95 100
Asp Tyr Met Arg Asp Leu Tyr Arg Leu Gln Ser Gly Glu Glu Glu Glu 105 110 115
Glu Gln Ile His Ser Thr Gly Leu Glu Tyr Pro Glu Arg Pro Ala Ser 120 125
Arg Ala Asn Thr Val Arg Ser Phe His His Glu Glu His Leu Glu Asn 130 135 140 145 150 155 160 165 170 175 180 185 190 195 200 205 210 215 220 225 230 235 240 245 250 255 260 265 270 275 280 285 290 295 300 305 310 315 320 325 330 335 340 345 350 355 360 365 370 375 380 385 390 395 400

Val Val Glu Gly Cys Gly Cys Arg 405

(2)配列番号: 20の情報は:

- (i)配列の特色:
(A)長さ: 102アミノ酸
(B)型: アミノ酸
(C)鎖の数: 一本鎖
(D)トポロジー: 直鎖状

(ii)配列の種類: タンパク質

(vi)起源:

(A)生物名: ヒト

(ix)配列の特徴

- (A)特徴を表す記号: Protein
(B)位置: 1..102
(D)他の情報: /注記 = 「BWP5」

(xi)配列: 配列番号: 20:

Cys Lys Lys His Glu Leu Tyr Val Ser Phe Arg Asp Leu Gly Trp Gln 1 5 10 15
Asp Trp Ile Ile Ala Pro Glu Gly Tyr Ala Ala Phe Tyr Cys Asp Gly 20 25 30 35
Glu Cys Ser Phe Pro Leu Asn Ala His Met Asn Ala Thr Asn His Ala 40 45 50 55 60 65
Ile Val Gln Thr Leu Val His Leu Met Phe Pro Asp His Val Pro Lys 70 75 80 85 90 95
Pro Cys Cys Ala Pro Thr Lys Leu Asn Ala Ile Ser Val Leu Tyr Phe 100 105 110 115 120 125 130 135 140 145 150 155 160 165 170 175 180 185 190 195 200 205 210 215 220 225 230 235 240 245 250 255 260 265 270 275 280 285 290 295 300 305 310 315 320 325 330 335 340 345 350 355 360 365 370 375 380 385 390 395 400
Asp Asp Ser Ser Asn Val Ile Leu Lys Lys Tyr Arg Asn Met Val Val 85 90 95
Arg Ser Cys Gly Cys His 100

(2)配列番号: 21の情報は:

- (i)配列の特色:
(A)長さ: 102アミノ酸
(B)型: アミノ酸
(C)鎖の数: 一本鎖
(D)トポロジー: 直鎖状

Ile Pro Gly Thr Ser Glu Asn Ser Ala Phe Arg Phe Leu Phe Asn Leu 130 135 140
Ser Ser Ile Pro Glu Asn Glu Val Ile Ser Ser Ala Glu Leu Arg Leu 145 150 155 160
Phe Arg Glu Gln Val Asp Gln Gly Pro Asp Trp Glu Arg Gly Phe His 165 170 175
Arg Ile Asn Ile Tyr Glu Val Met Lys Pro Pro Ala Glu Val Val Pro 180 185 190
Gly His Leu Ile Thr Arg Leu Leu Asp Thr Arg Leu Val His His Asn 195 200 205
Val Thr Arg Trp Glu Thr Phe Asp Val Ser Pro Ala Val Leu Arg Trp 210 215 220
Thr Arg Glu Lys Gln Pro Asn Tyr Gly Leu Ala Ile Glu Val Thr His 225 230 235 240
Leu His Gln Thr Arg Thr His Gln Gly Gln His Val Arg Ile Ser Arg 245 250 255
Ser Leu Pro Gln Gly Ser Gly Asn Trp Ala Gln Leu Arg Pro Leu Leu 260 265 270
Val Thr Phe Gly His Asp Gly Arg Gly His Ala Leu Thr Arg Arg Arg 275 280 285 290
Arg Ala Lys Arg Ser Pro Lys His His Ser Gln Arg Ala Arg Lys Lys 295 300
Asn Lys Asn Cys Arg Arg His Ser Leu Tyr Val Asp Phe Ser Asp Val 305 310 315 320
Gly Trp Asn Asp Trp Ile Val Ala Pro Pro Gly Tyr Gln Ala Phe Tyr 325 330 335
Cys His Gly Asp Cys Pro Phe Pro Leu Ala Asp His Leu Asn Ser Thr 340 345 350
Asn His Ala Ile Val Gln Thr Leu Val Asn Ser Val Asn Ser Ser Ile 355 360 365
Pro Lys Ala Cys Cys Val Pro Thr Glu Leu Ser Ala Ile Ser Met Leu 370 375 380
Tyr Leu Asp Glu Tyr Asp Lys Val Val Leu Lys Asn Tyr Gln Glu Met 385 390 395 400

(ii)配列の種類: タンパク質

(vi)起源:

(A)生物名: ヒト

(ix)配列の特徴

- (A)特徴を表す記号: Protein
(B)位置: 1..102
(D)他の情報: /注記 = 「BWP6」

(xi)配列: 配列番号: 21:

Cys Arg Lys His Glu Leu Tyr Val Ser Phe Gln Asp Leu Gly Trp Gln 1 5 10 15
Asp Trp Ile Ile Ala Pro Lys Gly Tyr Ala Ala Asn Tyr Cys Asp Gly 20 25 30 35
Glu Cys Ser Phe Pro Leu Asn Ala His Met Asn Ala Thr Asn His Ala 40 45 50 55 60 65
Ile Val Gln Thr Leu Val His Leu Met Asn Pro Glu Tyr Val Pro Lys 70 75 80 85 90 95
Pro Cys Cys Ala Pro Thr Lys Leu Asn Ala Ile Ser Val Leu Tyr Phe 100 105 110 115 120 125 130 135 140 145 150 155 160 165 170 175 180 185 190 195 200 205 210 215 220 225 230 235 240 245 250 255 260 265 270 275 280 285 290 295 300 305 310 315 320 325 330 335 340 345 350 355 360 365 370 375 380 385 390 395 400
Asp Asp Asn Ser Asn Val Ile Leu Lys Lys Tyr Arg Trp Met Val Val 85 90 95
Arg Ala Cys Gly Cys His 100

(2)配列番号: 22の情報は:

- (i)配列の特色:
(A)長さ: 102アミノ酸
(B)型: アミノ酸
(D)トポロジー: 直鎖状

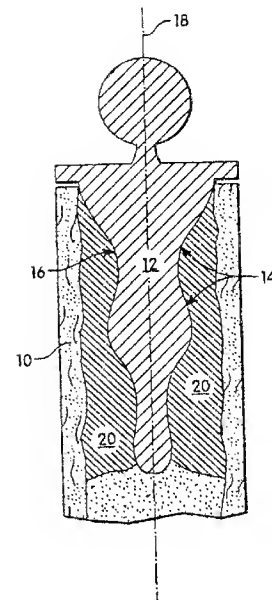
(ii)配列の種類: タンパク質

(ix)配列の特徴

- (A)特徴を表す記号: Protein (タンパク質)
(B)位置: 1..102
(D)他の情報: /ラベル=OPX
/注記 = 「ここで、各位置のXaaは、マウスまたはヒトのOP1またはOP2のC末端配列中の対応する位置に存在する残基から独立して選択される (配列番号1、8、10、および12を参照のこと)。」

(xi)配列: 配列番号: 22:

Cys Iaa Iaa His Glu Leu Tyr Val Iaa Phe Iaa Asp Leu Gly Trp Iaa
 1 5 10 15
 Asp Trp Iaa Ile Ala Pro Iaa Gly Tyr Iaa Ala Tyr Tyr Cys Glu Gly
 20 25 30
 Glu Cys Iaa Phe Pro Leu Iaa Ser Iaa Met Asn Ala Thr Asn His Ala
 35 40 45
 Ile Iaa Gln Iaa Leu Val His Iaa Iaa Iaa Pro Iaa Val Pro Lys
 50 55 60
 Iaa Cys Cys Ala Pro Thr Iaa Leu Iaa Ala Iaa Ser Val Leu Tyr Iaa
 65 70 75 80
 Asp Iaa Ser Iaa Asn Val Iaa Leu Iaa Lys Iaa Arg Asn Met Val Val
 85 90 95
 Iaa Ala Cys Gly Cys His
 100



補正書の写し(翻訳文)提出書(特許法第184条の8)

明細書

増強された骨形成特性を有する補綴デバイス

平成6年12月16日

特許庁長官殿

1. 特許出願の表示

PCT/US93/05446

2. 発明の名称

増強された骨形成特性を有する補綴デバイス

3. 特許出願人

住所 アメリカ合衆国 マサチューセッツ 01760-0053,
 ネイティック, ワースター ロード 594, スイート 201,
 ワン アップル ヒル
 名称 ストライカー コーポレーション

4. 代理人

住所 〒540 大阪府大阪市中央区城見一丁目2番27号
 クリスタルタワー15階
 氏名 (7828) 井理士 山本 秀策
 電話(大阪) 06-949-3910

5. 補正書の提出年月日

1994年4月28日

6. 添付書類の目録

(1) 補正書の写し(翻訳文)

1通



関連出願の参照

本出願は、1992年2月21日に出願された係属中の米国特許出願第07/841,646号(現在は米国特許第5,266,683号)の一部継続出願である。この一部継続出願は、以下の米国特許出願の一部継続出願である: 1) 1992年1月28日に出願された第07/827,052号(現在は米国特許第5,250,302号)、これは1988年4月8日に出願された米国特許出願第07/179,406号(現在は米国特許第4,968,590号)の分割出願である; 2) 1990年9月7日に出願された第07/579,865号、これは米国特許出願第07/179,406号の分割出願である; 3) 1990年12月4日に出願された第07/621,849号、1988年8月15日に出願された米国特許出願第07/232,630号(現在は放棄)の分割出願であり、後者の出願は第07/179,406号の一部継続出願であった; 4) 1990年12月4日に出願された第07/621,988号、これは1989年2月23日に出願された米国特許出願第07/315,342号(現在は米国特許第5,011,691号)の分割出願であり、第07/232,630号の一部継続出願である; 5) 1991年12月20日に出願された第07/810,560号、これは1991年2月22日に出願された米国特許出願第07/660,162号(現在は放棄)の継続出願であり、この第07/660,162号は1989年10月17日に出願された第07/422,699号(現在は放棄)の一部継続出願であった(第07/422,699号は

第07/315,342号の一部継続出願であった) ; 6) 1990年8月20日出願された第07/569,920号(現在は放棄)、これは第07/422,699号および第07/483,913号(後者は1989年10月17日出願された第07/422,613号(現在は米国特許第4,975,526号)の一部継続出願および第07/315,342号の一部継続出願である)の一部継続出願であった ; 7) 1990年10月18日出願された第07/600,024号、これは第07/569,920号の一部継続出願である ; 8) 1990年10月18日出願された第07/599,543号、これは第07/569,920号の一部継続出願である ; 9) 1990年11月21日出願された第07/616,374号、これは第07/422,613号の分割出願である ; および10) 1990年2月22日出願された第07/483,913号。

(以下余白)

組換え生産骨形成タンパク質は、1対のポリペプチド鎖を含む、哺乳類での軟骨内骨形成を誘導し得るダイマータンパク質の類を示し、各ポリペプチド鎖は、生合成構築物、すなわちCOP-5またはCOP-7(配列番号3および4)の配列に十分に重複したアミノ酸配列を有し、その結果、このポリペプチド鎖対は、ダイマー種を生成するようにジスルフィド結合されたとき、哺乳類において軟骨内骨形成を誘導し得る。本明細書中で定義されるように、「十分に重複した」とは、マトリックスに関連して哺乳類に移植したダイマータンパク質として軟骨内骨活性を有するタンパク質の類を示すことは理解される。各サブユニットは、C末端のシステインに富む領域中で、OPSの配列(335残基から431残基まで、配列番号1)と少なくとも60%のアミノ酸配列相同性を有する。「相同性」とは、アミノ酸配列が同一であること、またはその配列との同類アミノ酸置換が生じていること(Dayoffら、Atlas of Protein Sequence and Structure; 第5巻、第3号、345~362頁、(M.O. Dayoff編、Nat'l Biomed. Research Fdn., Washington, D.C., 1979)により定義される)と、本明細書中で定義される。有用な配列は、以下のタンパク質のC末端を含む配列である: DPP(シウジョウバエ由来)、Vgl(アフリカツメガエル由来)、Vgr-1(マウス由来)、OP1およびOP2タンパク質、CBWP2、CBWP3、およびCBWP4タンパク質(米国特許第5,011,691号、および米国特許第5,266,683号を参照のこと、これら両方の開示内容は本明細書中に参考として援用されている)、

ならびにBWP5およびBWP6と称されるタンパク質(WO90/11366、PCT/US90/01630)。これらのタンパク質の多くはまたWO88/00205、米国特許第5,013,649号、およびWO91/18098に記載されている。表Iに、これら骨形成タンパク質ファミリーの好ましいメンバーを挙げる。

表I—骨形成タンパク質配列

hOP1 — ヒトOP1タンパク質をコードするDNA配列(配列番号1または3)。関連出願では「OP1」、「hOP-1」、および「OP-1」とも称されている。

(以下余白)

1つの局面では、補綴物は、該補綴物を支えるように調整された開口部に挿入されるように形成されるデバイスを含む。この実施態様では、図に示すように、骨の内部(10)を、インプラント(12)の挿入のための準備としてくり抜く。このインプラントは、複数のくぼみ(16)を規定する不規則輪郭の表面デザイン(14)を有し、このためくぼみへの骨の内方成長が可能になる。このくぼみは、好ましくは、インプラントの縦軸(18)に対して垂直方向にある。開口部に挿入される不規則輪郭部分は、上記のように骨形成タンパク質でコーティングされ得る。マトリックス材(20)と組み合わせられる骨形成タンパク質を、補綴インプラントと共に開口部に充填し、それによりインプラントを取り囲む骨形成タンパク質により刺激されて、上記のように、新たな骨がくぼみ(16)中に成長し、インプラント(12)の表面および既に存在する骨(10)と統合する。従って、上記補綴物は、適切な位置で機械的および生物学的に固定され、骨に関連するインプラントの軸の動きは、骨組織の剪断を必要とするようになる。骨の成長および固定を増強する補綴物のコーティングのためのマトリックス材(20)は、上記の材料のいずれかであり得る。例えば、コラーゲン、ヒドロキシアパタイト、グリコール酸、乳酸、および酪酸のホモポリマーまたはコポリマーおよびそれらの誘導体、リン酸三カルシウムまたは他のリン酸カルシウム、酸化金属(例えば、酸化チタン)、および脱塩シグアニジン抽出した骨が挙げられる。本発明の実施態様で用いられ得る骨形成タンパク

質との使用のためのマトリックス材は、例えば、米国特許第5,011,691号、および米国特許第5,266,683号に記載の材料であり、これらの教示内容は、これにより本明細書中に参考として援用される。

図に示される補綴物は、最後に補綴物の一部が骨組織にはめ込まれるべき場所への、歯科用インプラントおよび他のインプラントに特に有用である。開口部（例えば歯槽）の「骨形成デバイス」（例えばマトリックス材と組み合わせた骨形成タンパク質）での充填は、このデバイスが本来の骨に貫通される必要がなく、補綴物をはめ込む場所に堅い材料を提供する。

1. 補綴デバイスの表面上での実質的に純粋な骨形成タンパク質の、哺乳類の特定の部位での移植における該デバイスのインビボでの骨統合を促進するための使用であって、該部位で、骨組織と該表面とは、該組織と該デバイスとの間で骨組織の成長を増強させるのに十分な時間、少なくとも部分的に接触されて維持される使用；

ここで、該骨形成タンパク質は、1対のポリペプチド鎖を含む塩基性タンパク質であり、該ポリペプチド鎖の一方が、配列番号1の335残基から431残基までにより規定されるアミノ酸配列(OPS)と60%より大きい同一性を有するアミノ酸配列を含み、該ポリペプチド鎖対が、ダイマー種を生成するようにジスルフィド結合され、マトリックスに配置されて、哺乳類に移植されるときに軟骨内骨形成を誘導し得るコンホメーションを有する。

2. 移植前の補綴デバイス表面上での実質的に純粋な骨形成タンパク質の、哺乳類の骨格系を修復するための使用であって、それにより該デバイスへの骨組織の成長の増強を促進し、そして骨と該デバイスとの間の接合部の引っ張り強度を改良する使用；

ここで、該骨形成タンパク質は、1対のポリペプチド鎖を含む塩基性タンパク質であり、該ポリペプチド鎖の一方が、

配列番号1の335残基から431残基までにより規定されるアミノ酸配列(OPS)と60%より大きい同一性を有するアミノ酸配列を含み、該ポリペプチド鎖対が、ダイマー種を生成するようにジスルフィド結合され、マトリックスに配置されて、哺乳類に移植されるときに軟骨内骨形成を誘導し得るコンホメーションを有する。

3. 前記補綴デバイス表面が、ヒドロキシアパタイト、セラゲン、グリコール酸、乳酸、または酪酸のホモポリマーまたはコポリマーおよびそれらの誘導体、リン酸三カルシウムまたは他のリン酸カルシウム、酸化金属、またはそれらの組み合わせをさらに含む、請求項1または2に記載の使用。

4. 前記補綴デバイスが、有孔性の金属材料を含む、請求項1または2に記載の使用。

5. 前記ダイマー種骨形成タンパク質が宿主細胞における組換えDNAの発現により生産され、そしてそこから単離される、請求項1または2に記載の使用。

6. 前記骨形成タンパク質が、宿主細胞における組換えDNAの発現により生産される骨形成活性を有するダイマー種タンパク質であり、以下でさらに特徴づけられる、請求項1または2に記載の使用；

該タンパク質が、ダイマー種を生成するようにジスルフィド結合された1対の酸化サブユニットを含み、該サブユニットの一方が、ストリンジェントなハイブリダイゼーション条件下でOPS（配列番号1の335残基から341残基）をコードする核酸にハイブリダイズし得る核酸によりコードされたアミノ酸配列を有し、該サブユニットを含むジスルフィド結合ダイマー種が、前記デバイスの表面に配置されるとき哺乳類で軟骨内骨形成を誘導し得るコンホメーションを有する。

7. 前記ダイマー種骨形成タンパク質がグリコシル化されていない、請求項5に記載の使用。

8. 前記タンパク質の各ポリペプチド鎖が、OPSを含むアミノ酸配列と65%より大きい同一性を有するアミノ酸配列を含む、請求項1または2に記載の使用。

9. 前記ポリペプチド鎖の一方のアミノ酸配列が、配列番号1の335残基から431残基により規定されるアミノ酸配列(OPS)を含む、請求項8に記載の使用。

10. 前記ポリペプチド鎖のいずれもが、配列番号1の335残基から431残基により規定されるアミノ酸配列(OPS)を含む、請求項8に記載の使用。

1 1. 前記ポリペプチド鎖のいずれもが、配列番号1の318残基から431残基のアミノ酸配列(OP1-16Val)を含む、請求項10に記載の使用。

1 2. 骨組織に近接した移植のための有孔または無孔の表面領域を有する堅い補綴インプラントを含む、哺乳類の骨の欠損、損傷、または異常を修復するための補綴デバイスであって、以下を含むデバイス：

該表面への骨組織の成長の増強を促進するのに充分な量で、該表面領域に配置された実質的に純粋な骨形成に活性な骨形成タンパク質；

ここで、該骨形成タンパク質は、1対のポリペプチド鎖を含む塩基性タンパク質であり、該ポリペプチド鎖の一方が、配列番号1の335残基から431残基までにより規定されるアミノ酸配列(OPS)と60%より大きい同一性を有するアミノ酸配列を含み、該ポリペプチド鎖対が、ダイマー種を生成するようにジスルフィド結合され、マトリックスに配置されて、哺乳類に移植されるときに軟骨内骨形成を誘導し得るコンホメーションを有する。

1 3. 前記補綴デバイス表面が、さらにヒドロキシアパタイトを含む、請求項12に記載のデバイス。

1 4. 前記ダイマー種骨形成タンパク質が、宿主細胞にお

5残基から431残基により規定されるアミノ酸配列(OPS)を含む、請求項17に記載のデバイス。

2 0. 前記ポリペプチド鎖のいずれもが、配列番号1の318残基から431残基により規定されるアミノ酸配列(OP1-16Val)を含む、請求項19に記載のデバイス。

2 1. 前記補綴物が、有孔性の金属材料を含む、請求項12に記載のデバイス。

2 2. 前記補綴物が、その縦軸に垂直方向で複数のくぼみを有する、開口部への挿入のための移植可能な不規則輪郭部分を含有する、請求項12に記載のデバイス。

2 3. 歯科用インプラントを含む、請求項22に記載のデバイス。

2 4. 移植可能な不規則輪郭部分を含有する補綴デバイスの、骨の開口部中での該補綴デバイスのインビボでの骨統合を促進するための使用であって、該不規則輪郭部分は、その縦軸に垂直方向で複数のくぼみを有し、ここで、該補綴デバイスの該不規則輪郭部分は、マトリックス材と組み合わせた実質的に純粋な骨形成タンパク質を含む骨成長組成物でコーティングされており、ここで、該組成物は、該くぼみでの骨の

いて組換えDNAにより生産され、そしてそこから単離される、請求項12に記載のデバイス。

1 5. 前記ダイマー種骨形成タンパク質がグリコシル化されていない、請求項14に記載のデバイス。

1 6. 前記ポリペプチド鎖の一方が、OPS(配列番号1の335残基から431残基)をコードする核酸にハイブリダイズし得る核酸によりコードされたアミノ酸配列を含み、該ポリペプチド鎖を含むジスルフィド結合ダイマー種が、前記デバイスの表面に配置されるとき哺乳類において軟骨内骨形成を誘導し得るコンホメーションを有する、請求項12に記載のデバイス。

1 7. 前記タンパク質の各ポリペプチド鎖が、配列番号1の335残基から431残基(OPS)を含むアミノ酸配列と65%より大きい同一性を有するアミノ酸配列を含む、請求項12に記載のデバイス。

1 8. 前記タンパク質のポリペプチド鎖の一方が、配列番号1の335残基から431残基により規定されるアミノ酸配列(OPS)を含む、請求項17に記載のデバイス。

1 9. 前記ポリペプチド鎖のいずれもが、配列番号1の33

成長、該骨と該補綴デバイスとの間の骨統合、および該組成物および該骨により誘導される新規な骨の骨統合を誘導する、使用；

ここで、該骨形成タンパク質は、1対のポリペプチド鎖を含む塩基性タンパク質であり、該ポリペプチド鎖の一方が、配列番号1の335残基から431残基までにより規定されるアミノ酸配列(OPS)と60%より大きい同一性を有するアミノ酸配列を含み、該ポリペプチド鎖対が、ダイマー種を生成するようにジスルフィド結合され、マトリックスに配置されて、哺乳類に移植されるときに軟骨内骨形成を誘導し得るコンホメーションを有する。

2 5. 前記不規則輪郭部分が、有孔性の金属材料を含む、請求項24に記載の使用。

2 6. 前記骨形成タンパク質が、前記孔への骨の内方成長を増強する、請求項25に記載の使用。

2 7. 骨の開口部中での補綴物のインビボでの骨統合を促進するためのデバイスであって、以下を含むデバイス：

該開口部への挿入のための不規則輪郭部分を有する堅い補綴インプラントであって、該不規則輪郭部分は、その縦軸に垂直方向に複数のくぼみを有する、インプラント；およびマトリックス材と組み合わせて実質的に純粋な骨形成タン

バク質を含む骨成長組成物であって、該組成物は、該くぼみでの骨の成長、該骨と該補綴インプラントとの間の骨統合、および該組成物および該骨により誘導される新規な骨の骨統合を誘導する、組成物：

ここで、該骨形成タンパク質は、塩基性のダイマー種タンパク質であり、そして1対のポリペプチド鎖を含み、該ポリペプチド鎖の一方が、配列番号1の335残基から431残基までにより規定されるアミノ酸配列(OPS)と60%より大きい同一性を有するアミノ酸配列を含み、該ポリペプチド鎖対が、ダイマー種を生成するようにジスルフィド結合され、マトリックスに配置されて、哺乳類に移植されるときに軟骨内骨形成を誘導し得るコンホメーションを有する。

28. 前記不規則輪郭部分が、有孔性の金属材料を含む、請求項27に記載のデバイス。

29. 前記骨形成タンパク質が、前記孔への骨の内方成長を増強する、請求項28に記載のデバイス。

30. 前記マトリックス材が、ヒドロキシアパタイト、コラーゲン、グリコール酸、乳酸、または酪酸のポリマーまたはコポリマー、リン酸三カルシウムまたは他のリン酸カルシウム、酸化金属、脱塩され、グアニジン抽出された骨、およびそれらの組み合わせからなる群から選択される、請求項2

7に記載のデバイス。

31. 歯科用インプラントを含む、請求項27に記載のデバイス。

32. 前記タンパク質が、宿主細胞において組換えDNAにより生産され、そしてそこから単離される、請求項24または27に記載のデバイス。

33. 前記タンパク質がグリコシル化されていない、請求項34に記載のデバイス。

手続補正書

平成7年1月27日

特許庁長官殿

1. 事件の表示

PCT/US93/05446

2. 発明の名称

増強された骨形成特性を有する補綴デバイス

3. 補正をする者

事件との関係 特許出願人

住所 アメリカ合衆国 マサチューセッツ 01760-0053,
ネイティック, ウースター ロード 594, スイート 201,
ワシ アップル ヒル

名称 ストライカー コーポレイション

4. 代理人

住所 〒540 大阪府大阪市中央区城見一丁目2番27号
クリスタルタワー15階

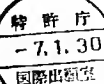
氏名 (7828) 井理士 山本 秀策
電話(大阪) 06-946-3910

5. 補正の対象

請求の範囲

6. 補正の内容

請求の範囲を別紙のとおりにする。



請求の範囲

1. 実質的に純粋な骨形成タンパク質を含む、哺乳類の特定の部位での移植における補綴デバイスのインビボでの骨統合を促進するために該デバイスの表面をコーティングするための試薬であって、該部位で、骨組織と該表面とは、該組織と該デバイスとの間で骨組織の成長を増強させるのに充分な時間、少なくとも部分的に接触されて維持される、試薬：

ここで、該骨形成タンパク質は、1対のポリペプチド鎖を含むタンパク質であり、該ポリペプチド鎖の一方が、配列番号1の335残基から431残基までにより規定されるアミノ酸配列(OPS)と60%より大きい同一性を有するアミノ酸配列を含み、該ポリペプチド鎖対が、ダイマー種を生成するようにジスルフィド結合され、マトリックスに配置されて、哺乳類に移植されるときに軟骨内骨形成を誘導し得るコンホメーションを有する。

2. 実質的に純粋な骨形成タンパク質を含む、哺乳類の骨格系を修復するために移植前の補綴デバイスの表面をコーティングするための試薬であって、それにより該デバイスへの骨組織の成長を増強を促進し、そして骨と該デバイスとの間の接合部の引っ張り強度を改良する、試薬：

ここで、該骨形成タンパク質は、1対のポリペプチド鎖を含むタンパク質であり、該ポリペプチド鎖の一方が、配列番号1の335残基から431残基までにより規定されるアミノ酸配列(OPS)と60%より大きい同一性を有するアミノ酸配列を含み、該ポリペプチド鎖対が、ダイマー種を生成するようにジスルフィド結合され、マトリックスに配置されて、哺乳類に移植されるときに軟骨内骨形成を誘導し得るコンホメーションを有する。

3. 前記補綴デバイス表面が、ヒドロキシアパタイト、コラーゲン、グリコール酸、乳酸、または酪酸のホモポリマーまたはコポリマーおよびそれらの誘導体、リン酸三カルシウムまたは他のリン酸カルシウム、酸化金属、またはそれらの組み合わせをさらに含む、請求項1または2に記載の試薬。

4. 前記補綴デバイスが、有孔性の金属材料を含む、請求項1または2に記載の試薬。

5. 前記ダイマー種骨形成タンパク質が宿主細胞における組換えDNAの発現により生産され、そしてそこから単離される、請求項1または2に記載の試薬。

6. 前記骨形成タンパク質が、宿主細胞における組換えDNAの発現により生産される骨形成活性を有するダイマー種タンパク質であり、以下でさらに特徴づけられる、請求項1または2に記載の試薬：

該タンパク質が、ダイマー種を生成するようにジスルフィド結合された1対の酸化サブユニットを含み、該サブユニットの一方が、ストリンジェントなハイブリダイゼーション条件下で、配列番号1の335残基から431残基までにより規定されるOPSをコードする核酸にハイブリダイズし得る核酸によりコードされたアミノ酸配列を有し、該サブユニットを含むジスルフィド結合ダイマー種が、前記デバイスの表面に配置されるとき哺乳類で軟骨内骨形成を誘導し得るコンホメーションを有する。

7. 前記ダイマー種骨形成タンパク質がグリコシル化されていない、請求項5に記載の試薬。

8. 前記タンパク質の各ポリペプチド鎖が、OPSを含むアミノ酸配列と65%より大きい同一性を有するアミノ酸配列を含む、請求項1または2に記載の試薬。

9. 前記ポリペプチド鎖の一方のアミノ酸配列が、配列番号1の335残基から431残基により規定されるアミノ酸配列(OPS)を含む、請求項8に記載の試薬。

10. 前記ポリペプチド鎖のいずれもが、配列番号1の335残基から431残基により規定されるアミノ酸配列(OPS)を含む、請求項8に記載の試薬。

得るコンホメーションを有する、請求項12に記載のデバイス。

17. 前記タンパク質の各ポリペプチド鎖が、配列番号1の335残基から431残基を含むアミノ酸配列(OPS)と65%より大きい同一性を有するアミノ酸配列を含む、請求項12に記載のデバイス。

18. 前記タンパク質のポリペプチド鎖の一方が、配列番号1の335残基から431残基により規定されるアミノ酸配列(OPS)を含む、請求項17に記載のデバイス。

19. 前記ポリペプチド鎖のいずれもが、配列番号1の335残基から431残基により規定されるアミノ酸配列(OPS)を含む、請求項17に記載のデバイス。

20. 前記ポリペプチド鎖のいずれもが、配列番号1の318残基から431残基により規定されるアミノ酸配列(OP1-16Val)を含む、請求項19に記載のデバイス。

21. 前記補綴インプラントが、有孔性の金属材料を含む、請求項12に記載のデバイス。

22. 前記補綴インプラントが、その縦軸に垂直方向で複数のくぼみを有する、開口部への挿入のための移植可能な不規則輪郭部分を含有する、請求項12に記載のデバイス。

23. 歯科用インプラントを含む、請求項22に記載のデバイス。

24. 移植可能な不規則輪郭部分を含有する補綴デバイスであって、骨の開口部中での該補綴デバイスのインビボでの骨統合を促進するためのデバイスを選択する方法であって、以下の工程を包含する、方法：

a) その縦軸に垂直方向で複数のくぼみを有する不規則輪郭部分を有する堅い

11. 前記ポリペプチド鎖のいずれもが、配列番号1の318残基から431残基のアミノ酸配列(OP1-16Val)を含む、請求項10に記載の試薬。

12. 骨組織に近接した移植のための有孔または無孔の表面領域を有する堅い補綴インプラントを含む、哺乳類の骨の欠損、損傷、または異常を修復するための補綴デバイスであって、以下を含むデバイス：

該表面への骨組織の成長の増強を促進するのに十分な量で、該表面領域に配置された実質的に純粋な骨形成に活性な骨形成タンパク質；

ここで、該骨形成タンパク質は、1対のポリペプチド鎖を含むタンパク質であり、該ポリペプチド鎖の一方が、配列番号1の335残基から431残基までにより規定されるアミノ酸配列(OPS)と60%より大きい同一性を有するアミノ酸配列を含み、該ポリペプチド鎖対が、ダイマー種を生成するようにジスルフィド結合され、マトリックスに配置されて、哺乳類に移植されるときに軟骨内骨形成を誘導し得るコンホメーションを有する。

13. 前記補綴デバイス表面が、さらにヒドロキシアパタイトを含む、請求項12に記載のデバイス。

14. 前記ダイマー種骨形成タンパク質が、宿主細胞において組換えDNAにより生産され、そしてそこから単離される、請求項12に記載のデバイス。

15. 前記ダイマー種骨形成タンパク質がグリコシル化されていない、請求項14に記載のデバイス。

16. 前記ポリペプチド鎖の一方が、配列番号1の335残基から431残基までにより規定されるOPSをコードする核酸にハイブリダイズし得る核酸によりコードされたアミノ酸配列を含み、該ポリペプチド鎖を含むジスルフィド結合ダイマー種が、前記デバイスの表面に配置されるとき哺乳類において軟骨内骨形成を誘導し

補綴インプラントを提供する工程：および

b) マトリックス材と組み合わせた実質的に純粋な骨形成タンパク質を含む骨成長組成物で該部分をコーティングする工程；

ここで、該組成物は、該くぼみでの骨の成長、該骨と該補綴デバイスとの間の骨統合、および該組成物および該骨により誘導される新規な骨の骨統合を誘導し、該骨形成タンパク質は、1対のポリペプチド鎖を含むタンパク質であり、該ポリペプチド鎖の一方が、配列番号1の335残基から431残基までにより規定されるアミノ酸配列(OPS)と60%より大きい同一性を有するアミノ酸配列を含み、該ポリペプチド鎖対が、ダイマー種を生成するようにジスルフィド結合され、マトリックスに配置されて、哺乳類に移植されるときに軟骨内骨形成を誘導し得るコンホメーションを有する。

25. 前記不規則輪郭部分が、有孔性の金属材料を含む、請求項24に記載の方法。

26. 前記骨形成タンパク質が、前記孔への骨の内方成長を増強するために、前記孔内に配置される、請求項25に記載の方法。

27. 骨の開口部中での補綴物のインビボでの骨統合を促進するためのデバイスであって、以下を含むデバイス：

該開口部への挿入のための不規則輪郭部分を有する堅い補綴インプラントであって、該不規則輪郭部分は、その縦軸に垂直方向に複数のくぼみを有する、インプラント；および

マトリックス材と組み合わせた実質的に純粋な骨形成タンパク質を含む骨成長組成物であって、該組成物は、該くぼみでの骨の成長、該骨と該補綴インプラントとの間の骨統合、および該組成物および該骨により誘導される新規な骨の骨統合を誘導する、組成物；

ここで、該骨形成タンパク質は、ダイマー種タンパク質であり、そして1対のポリペプチド鎖を含み、該ポリペプチド鎖の一方が、配列番号1の335残基から4

28. 前記不規則輪郭部分が、有孔性の金属材料を含む、請求項27に記載のデバイス。

28. 前記不規則輪郭部分が、有孔性の金属材料を含む、請求項27に記載のデバイス。

29. 前記骨形成タンパク質が、前記孔への骨の内方成長を増強する、請求項28に記載のデバイス。

30. 前記マトリックス材が、ヒドロキシアパタイト、コラーゲン、グリコール酸、乳酸、または酪酸のポリマーまたはコポリマー、リン酸三カルシウムまたは他のリン酸カルシウム、酸化金属、脱塩され、グアニジン抽出された骨、およびそれらの組み合わせからなる群から選択される、請求項27に記載のデバイス。

3.1. 歯科用インプラントを含む、請求項27に記載のデバイス。

32. 前記タンパク質が、宿主細胞において組換えDNAにより生産され、そしてそこから単離される、請求項27に記載のデバイス。

3.3. 前記タンパク質がグリコシル化されていない、請求項3.2に記載のデバイス。

國際調查報告

PCT/US 93/05446

1. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER (If several classifications apply, indicate all) ¹			
According to International Patent Classification (IPC) or to last published Classification and IPC Int. Cl. 5 A61L27/00; A61K37/02; A61K6/00			
2. FIELD OF SEARCH			
Chemical Systems		Quasi-Chemical Systems	
Int. Cl. 5 A61L ; A61K ;		C07K	
3. DOCUMENTS SEARCHED other than Manuscript Documents to be Examined that were Documents are Included in the Prior Search ²			
(If several documents are searched, indicate all)			
(If several documents are searched, indicate all)			
4. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT ³			
Category ⁴	Character of Document ⁵ with indication, where appropriate, of the relevant paragraph ¹²	Excerpt to Claim No. ¹³	
X	WO, A, 8 800 205 (GENETICS INSTITUTE) 14 January 1988 cited in the application	13, 14, 23	
Y	see page 9, line 1 - line 2; claims 1, 2, 7 see abstract	15-22, 24, 25, 29-34	
X	EP, A, 0 361 896 (COLLAGEN CORPORATION) 4 April 1990	13, 14, 23	
Y	see column 5, line 28 - line 53 see column 7, line 19 - line 26; claims 1, 3-7, 16, 19	30-32	
X	EP, A, 0 182 483 (COLLAGEN CORPORATION) 28 May 1986 see page 13, line 12 - line 19 see page 5, line 1 - line 3; claims 1, 3, 7	13, 14, 23	
	-/-		
* System: management of oral documents ¹⁴ "A" document defining the general state of the art which is not completely in the art of the prior art "Y" document not published on or after the international filing date "X" document which is not three times as prior art (claim) in the art of the prior art (claim) or which is not three times as prior art (claim) of the prior art (claim) "Y" document relating to the art of the prior art, not published in the art of the prior art "X" document published prior to the international filing date but later than the priority (if claimed)			
"Y" later document published after the international filing date as prior art and not in conflict with the application, but cited in the art of the prior art to show underlying the invention "X" document of particular importance; the claimed invention does not encompass the art of the prior art or involves an inventive step "Y" document of particular importance; the claimed invention does not encompass the art of the prior art or involves an inventive step "X" document of particular importance; the claimed invention does not encompass the art of the prior art or involves an inventive step "Y" document of particular importance; the claimed invention does not encompass the art of the prior art or involves an inventive step			
"A" document number of the same patent family			
5. CERTIFICATION			
Date of the Actual Completion of the International Search		Date of Making of the International Search Report	
14 OCTOBER 1993		28. 10. 93	
Inventors, Invention		Signatures of Inventor(s) Other	
EUROPEAN PATENT OFFICE		PELTRE CHR.	

From: P/3/33-6/318 received 1998-11-11 14:00:00

PCT/US 93/05446

12. DOCUMENT IS CONSIDERED TO BE RELEVANT		(CONTINUED FROM THE SECOND PAGE)	
Category	Class of Document, its retrieval, when appropriate, of its relevant passage	Related to Class No.	
Y	WO,A,9 105 802 (CREATIVE BIOMOLECULES) 2 May 1991 cited in the application see page 69 - page 70 see page 3, line 1 - line 3 ---	15-22,34	
Y	EP,A,0 106 946 (SULZER) 2 May 1984 see figura 3 ---	24,29	
Y	DE,A,2 534 593 (LUKESCH F.) 26 February 1976 see claim 1; figura 1 ---	24,25, 29,33	
A	EP,A,0 470 305 (OSTEOTECH) 12 February 1992 ---		
A	EP,A,0 413 492 (OSTEOTECH) 20 February 1991 -----		

From 7/27/75 to 1/18/76, 1975, 1976, 1977, 1978, 1979, 1980

國際調查報告

International application No.

PCT/US 93/05446

Item 1 (Continuation where relevant claims were found unsearchable (Continuation of Item 1 of first sheet))

This international search report has not been established in respect of certain claims under Article 17(2)(c) for the following reason:

1. ☒ **Claims New:**
 because they relate to subject matter not required to be searched by this Authority, namely:
Remark: Although claims 1-12, 26-28 are directed to a method of treatment of (diagnostic method practised on) the human/animal body the search has been carried out and based on the alleged effects of the compound.

2. ☐ **Claims New:**
 because they relate in part to the international application that do not comply with the prescribed requirements in such an extent that no meaningful international search can be carried out, specifically:

3. ☐ **Claims New:**
 because they are dependent claims and are not drafted in accordance with the second and third sentences of Rule 6.4(c).

Item 11 (Observations where unity of invention is lacking (Continuation of Item 2 of first sheet))

This International Searching Authority found multiple inventions in this international application, as follows:

1. ☐ As all required additional search fees were directly paid by the applicant, the International search report covers all searchable claims.

2. ☐ As all searchable claims could be searched without effort justifying an additional fee, this Authority did not invite payment of any additional fee.

3. ☐ As only some of the required additional search fees were directly paid by the applicant, this international search report covers only those claims for which fees were paid, specifically claims 1 to 6.

4. ☐ No required additional search fees were directly paid by the applicant. Consequently, this international search report is restricted to the invention first mentioned in the claims, it is covered by claim 1(a).

Remark on Preamble

☐ The additional search fees were accompanied by the applicant's protest.

☐ No protest accompanied the payment of additional search fee.

Form PCT/ISA/212 from minimum of 1 page sheet (13) (July 1993)

This entry lists the patent family members relating to the patent documents cited in the above-mentioned international search report. The numbers are as contained in the European Patent Office (EPO) file as The European Patent Office is in no way liable for their particularity which are merely given for the purpose of information. 14/10/93

This entry lists the patent family members relating to the patent documents cited in the above-mentioned international search report. The numbers are as contained in the European Patent Office (EPO) file as The European Patent Office is in no way liable for their particularity which are merely given for the purpose of information. 14/10/93
Page 2

Patent document cited in search report	Publication date	Patent family member(s)	Publication date
WD-A-8800205	14-01-88	US-A- 4877864 AU-B- 613314 AU-A- 7783587 EP-A- 0313578 JP-T- 2500241 US-A- 5013649 US-A- 5166058 US-A- 5187076 US-A- 5116738 US-A- 5106748 US-A- 5108922 US-A- 5141905	31-10-89 01-08-91 29-01-88 03-05-89 01-02-90 07-05-91 24-11-92 16-02-93 26-05-92 21-04-92 28-04-92 25-08-92
EP-A-0361896	04-04-90	US-A- 5108436 AU-B- 628083 AU-A- 4233889 JP-A- 2218372 US-A- 5207710	28-04-92 10-09-92 05-04-90 31-08-90 04-05-93
EP-A-0182483	28-05-86	US-A- 4563350 AU-B- 585268 AU-A- 4900585 CA-A- 1266613 JP-A- 62016421 US-A- 4888366 US-A- 5001169	07-01-86 15-06-89 01-05-86 13-03-90 24-01-87 19-12-89 19-03-91
WD-A-9105802	02-05-91	US-A- 5171574 AU-A- 6648190 CA-A- 2042577 EP-A- 0448704 JP-T- 4502336 CA-A- 2027259	15-12-92 16-05-91 18-04-91 02-10-91 23-04-92 18-04-91
EP-A-0106946	02-05-84	CH-A- 657266	29-08-86
DE-A-2534593	26-02-76	AT-A- 349129 AU-A- 8389175 CH-A- 603147 JP-C- 985678	26-03-79 17-02-77 15-08-78 07-02-80

For more details about this entry: see Official Journal of the European Patent Office, No. 12/93

Patent document cited in search report	Publication date	Patent family member(s)	Publication date
DE-A-2534593		JP-A- 51041293 JP-B- 54019118 US-A- 3991472	07-04-76 12-07-79 16-11-76
EP-A-0470305	12-02-92	None	
EP-A-0413492	20-02-91	US-A- 5061286 JP-A- 3178665	29-10-91 02-08-91

For more details about this entry: see Official Journal of the European Patent Office, No. 12/93

フロントページの続き

(72)発明者 クブラサムバス, サンガブル
アメリカ合衆国 マサチューセッツ
02053, メドウウェイ, スプリング ストリ
ート 6

(72)発明者 オッパーマン, ハーマン
アメリカ合衆国 マサチューセッツ
02053, メドウウェイ, サマー ヒル ロー
ド 25
(72)発明者 オズケイナク, エグニン
アメリカ合衆国 マサチューセッツ
01757, ミルフォード, バデュー ドライ
ブ 44